



UFCSPA

**ESCOLA GAÚCHA DE
BIOINFORMÁTICA**




UNIVATES

Dinâmica Molecular Básica

Luis Fernando Saraiva

luis.timmers@univates.br

José Fernando Ruggiero Bachega

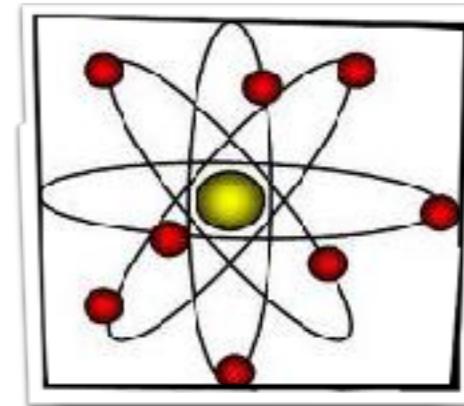
ferbachega@gmail.com

Introdução à Dinâmica Molecular

- ✓ Uma das técnicas computacionais mais versáteis para o estudo de macromoléculas biológicas;
- ✓ Útil em várias etapas do **SBDD**;
- ✓ Metodologia fundamentada nos princípios da **Mecânica Clássica**;
- ✓ Fornece informações sobre o **comportamento dinâmico microscópico, dependente do tempo**, dos átomos individuais que compõem o sistema;
- ✓ Para se obter as **propriedades macroscópicas** de interesse (pressão, energia interna, volume, temperatura, entropia, energia livre...), é necessário utilizar a **Mecânica Estatística**.

Mecânica Molecular

- ✓ Calcula a ESTRUTURA e ENERGIA das moléculas com base nos movimentos dos **núcleos**;
- ✓ Os **elétrons** não são considerados explicitamente: é assumido que encontrarão uma distribuição ótima, uma vez que as posições dos núcleos são conhecidas.



Aproximação de Born-Oppenheimer:

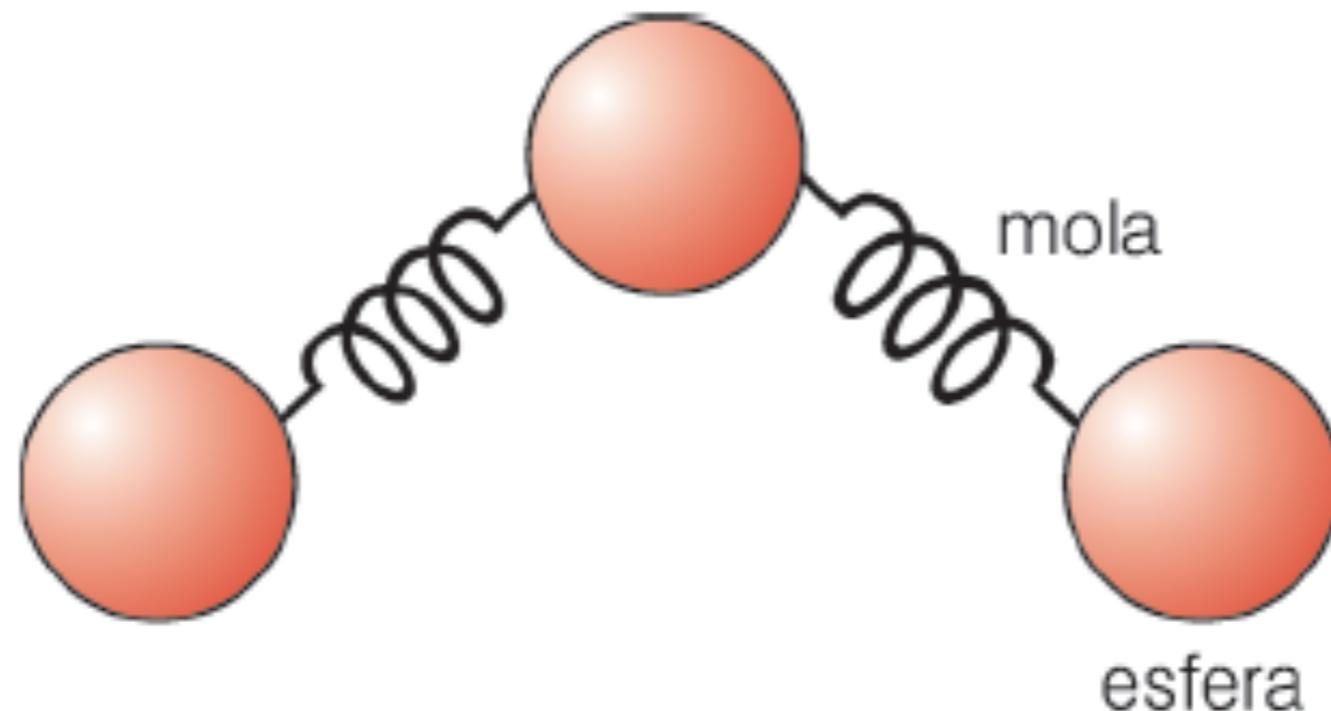
Núcleos + pesados → movem-se mais lentamente → seus movimentos (vibrações e rotações) podem ser estudadas separadamente → elétrons movem-se rapidamente, ajustando-se aos movimentos dos núcleos.

Mecânica Molecular

A molécula é tratada como uma coleção de esferas conectadas por molas.

Esferas = núcleos (átomos);

Molas = ligações.



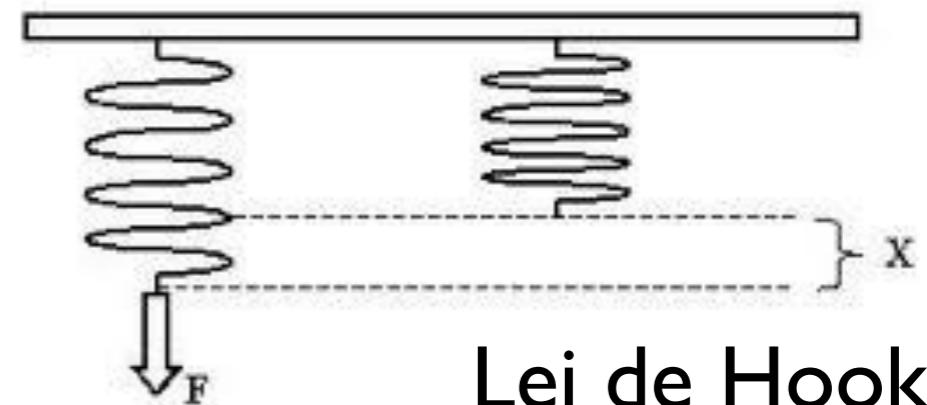
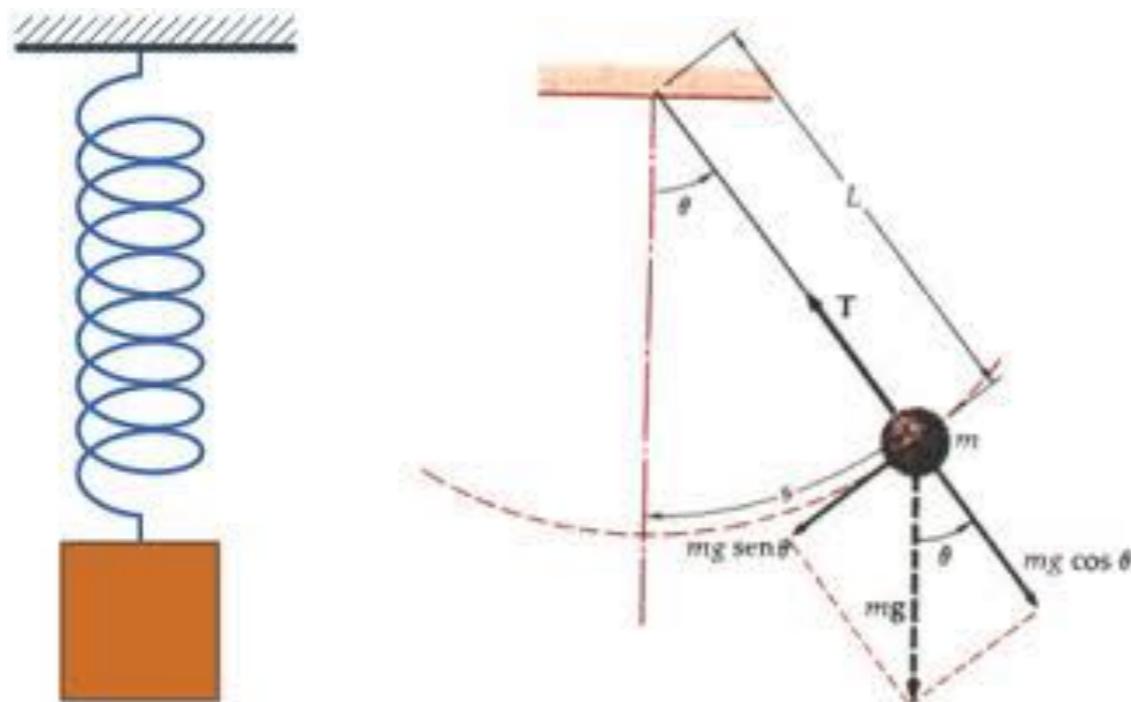
Mecânica Molecular

- ✓ As moléculas são tratadas como uma coleção de átomos que pode ser descrita por FORÇAS NEWTONIANAS.

Uma coleção de partículas é mantida unida por:

- **Forças harmônicas (oscilador harmônico) e força elástica:**

Comprimento de ligação, ângulo de ligação, ângulo diedro...



Lei de Hooke:
 $F = k X$

Campo de Força

- ✓ Conjunto completo dos potenciais de interação entre as partículas, que permite calcular a energia e geometria de uma molécula;
- ✓ É elaborado de forma que contenha:
 - Uma coleção de diferentes tipos de átomos;
 - Parâmetros (para comprimento e ângulos de ligação, etc.);
 - Equações para calcular a energia de uma molécula.
- ✓ Os parâmetros são provenientes de dados experimentais ou cálculos de mecânica quântica.

Campo de Força

Um típico Campo de Força é representado pela Equação:

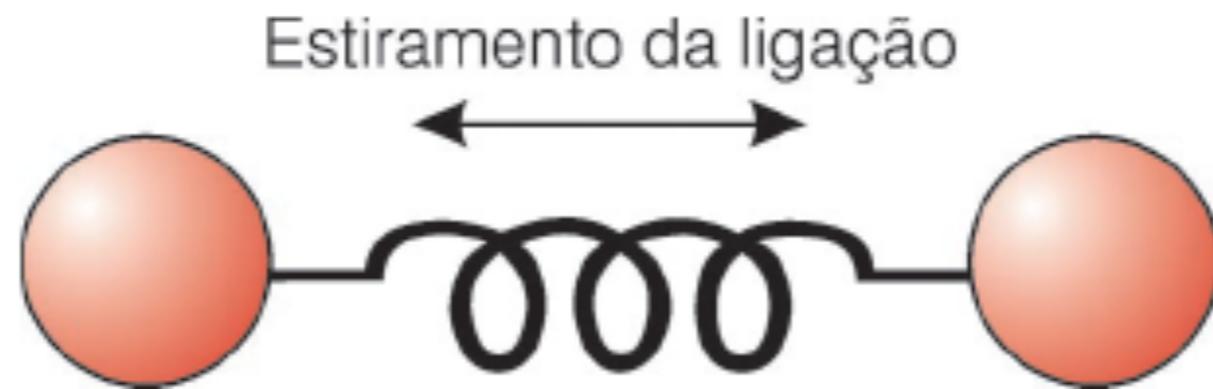
$$V(r) = \sum V_l + \sum V_o + \sum V_{vdW} + \sum V_{elet}$$

Onde:

V_l : energia de estiramento da ligação em relação ao seu valor de equilíbrio (ideal);

Campo de Força

Deformação no comprimento da ligação



Estiramento ou compressão da ligação = Aumento de energia da molécula

Campo de Força

Um típico Campo de Força é representado pela Equação:

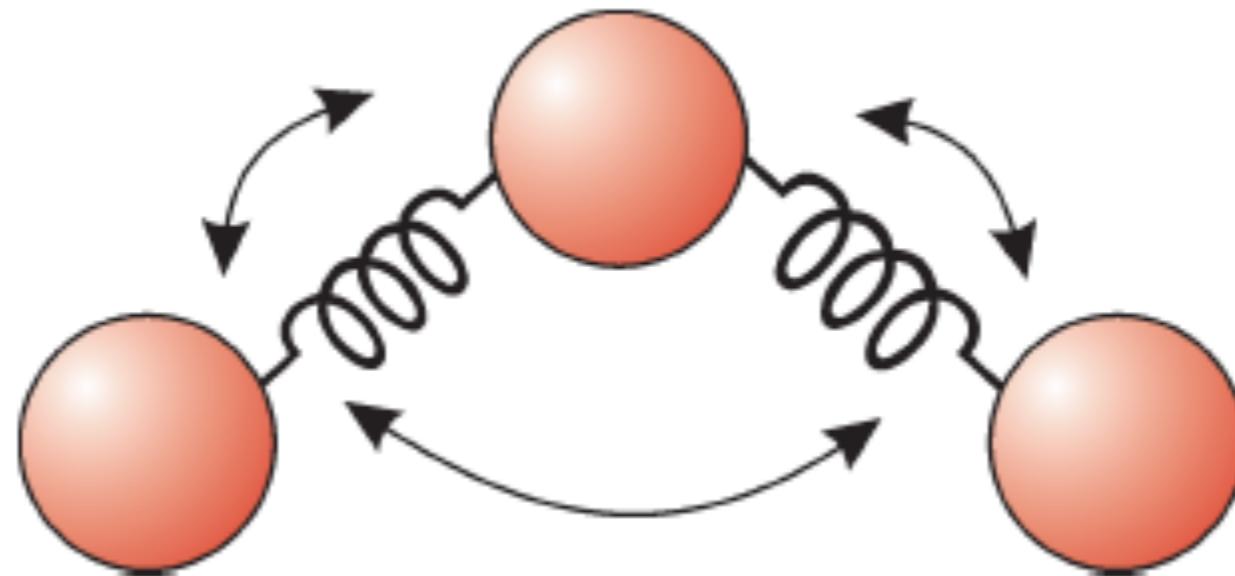
$$V(r) = \sum V_l + \sum V_\theta + \sum V_{vdW} + \sum V_{elet}$$

onde:

V_θ : energia de deformação do ângulo de ligação em
relação ao seu valor de equilíbrio (ideal);

Campo de Força

Deformação angular



Em relação a diferentes tipos de átomos e hibridizações

Campo de Força

Um típico Campo de Força é representado pela Equação:

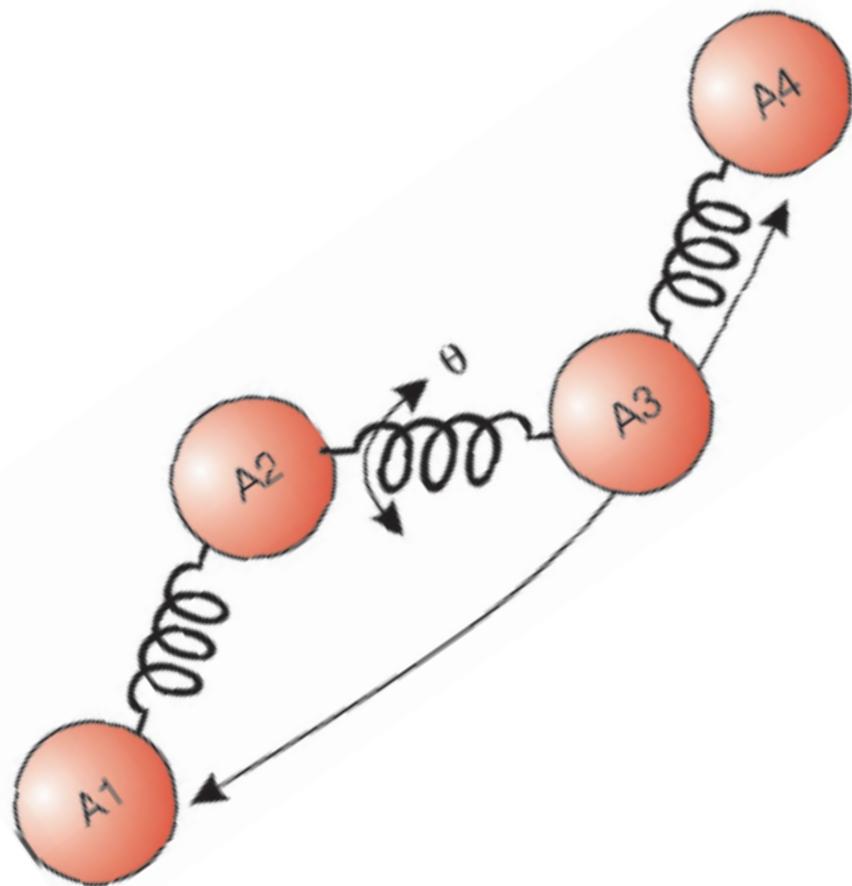
$$V(r) = \sum V_l + \sum V_\theta + \sum V_{vdW} + \sum V_{elet}$$

onde:

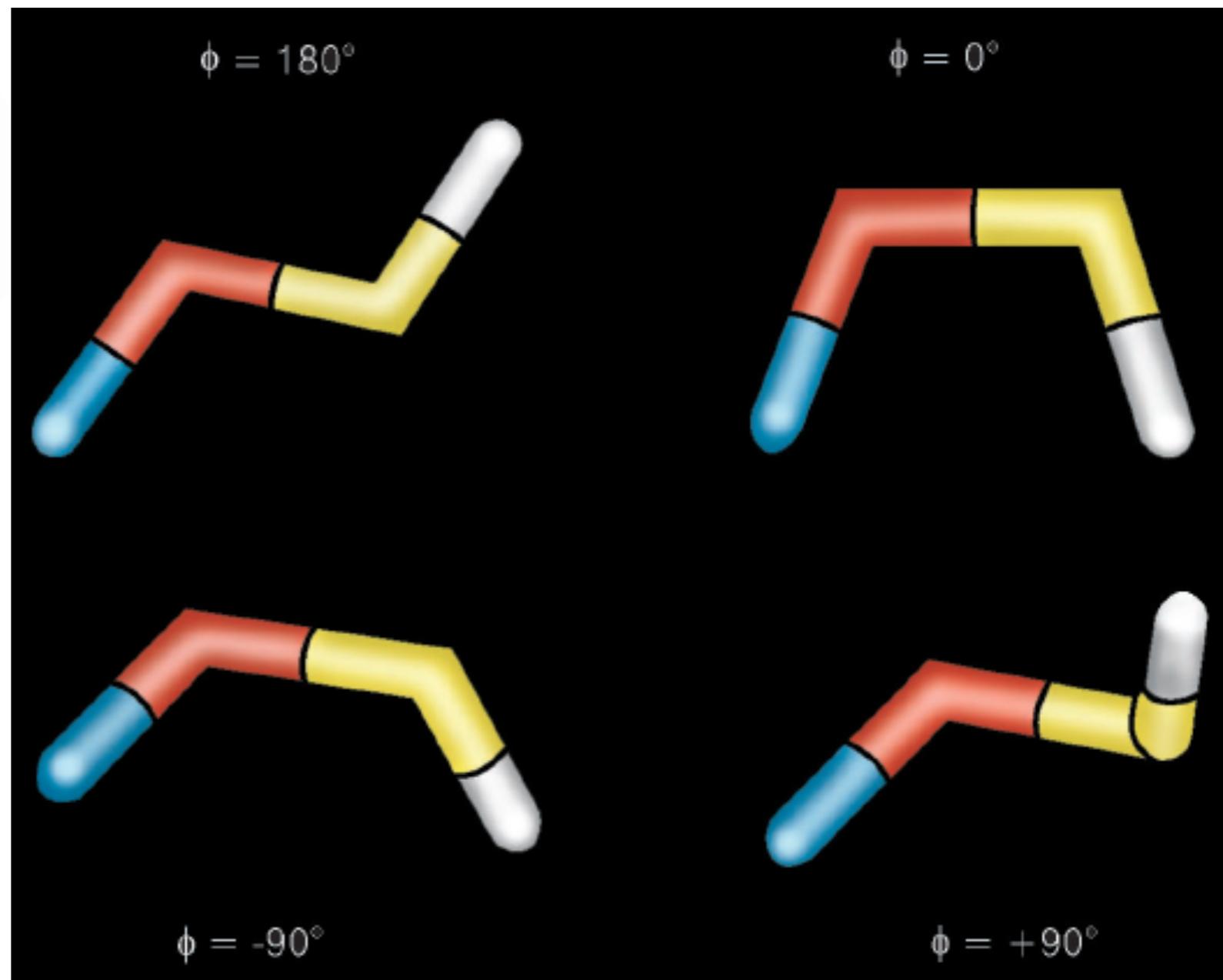
V_θ : energia devido à torção em torno de uma ligação em relação ao seu valor ideal;

Campo de Força

Barreira de energia de interações intramoleculares (ângulos de torção)



Representação do ângulo de diedro delimitados por 4 átomos consecutivos, assinalando diferentes valores de ângulo diedro.



Campo de Força

Um típico Campo de Força é representado pela Equação:

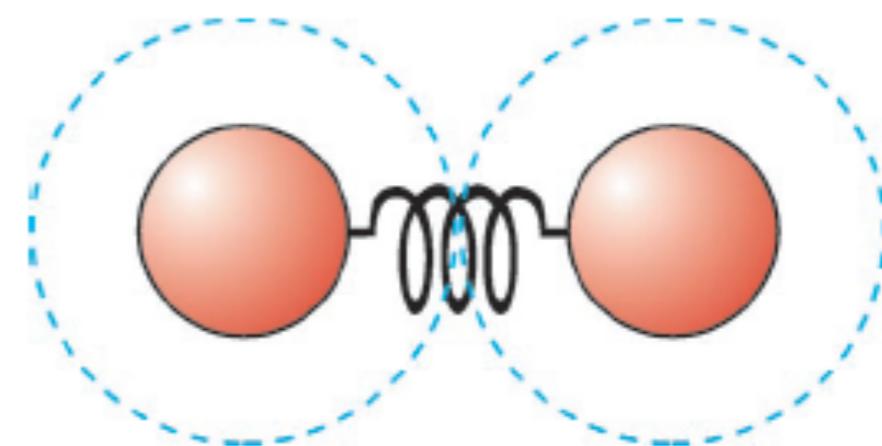
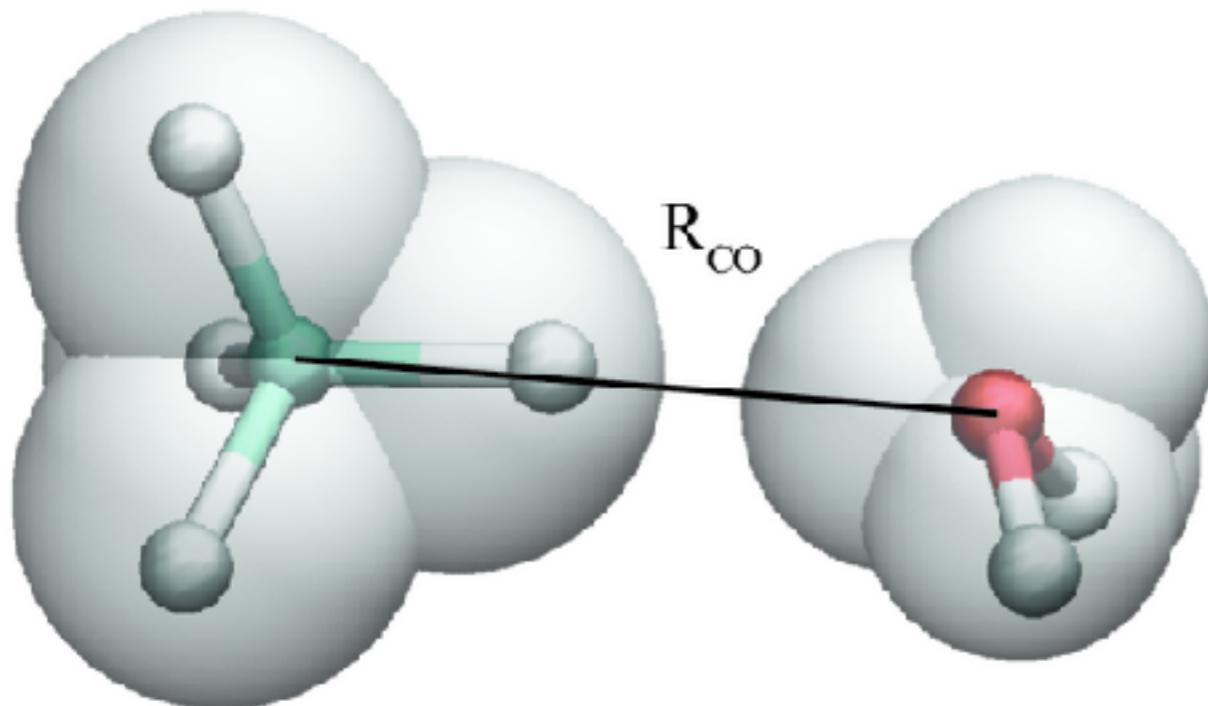
$$V(r) = \sum V_l + \sum V_o + \sum V_{vdW} + \sum V_{elet}$$

onde:

V_{vdW} : representa a energia das interações de van der Waals;

Campo de Força

Interações de van der Waals



Raio de vdW = tamanho efetivo do átomo;

Aproximação entre átomos não ligados = \uparrow da interação de vdW = \downarrow energia;

Distância entre dois átomos = soma dos seus raios vdW = atração máxima;

Maior aproximação = forte repulsão vdW.

Campo de Força

Um típico Campo de Força é representado pela Equação:

$$V(r) = \sum V_l + \sum V_o + \sum V_{vdW} + \sum V_{elet}$$

onde:

V_{elet} : representa a energia de atração ou repulsão eletrostática entre duas cargas.

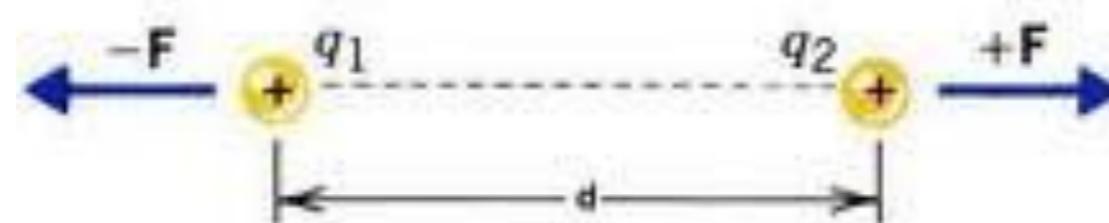
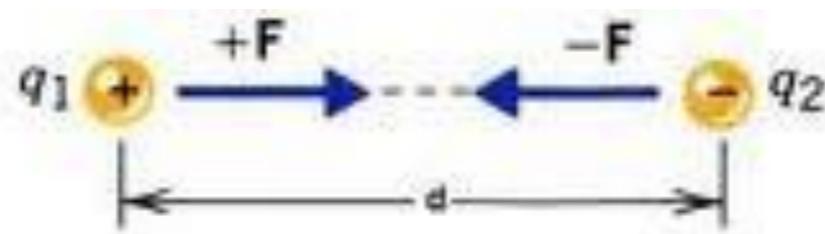
Campo de Força

Força de interação entre duas partículas – **Lei de Coulomb**

$$F = k \frac{q_1 q_2}{d^2}$$

K = 9 . 10⁹ unidades do SI

A **interação eletrostática** entre partículas eletrizadas manifesta-se por meio de forças de atração e repulsão, dependendo dos sinais das cargas:



Campo de Força

Além destes existem muitos outros parâmetros...

- ✓ Os campos de forças existentes foram desenvolvidos de maneira independente e com todos os conjuntos de parâmetros específicos;
- ✓ Alguns incluem parâmetros específicos para determinado tipo de interação;
- ✓ A confiabilidade dos resultados da DM é baseada na elaboração de um campo de força com parâmetros bem definidos;
- ✓ A escolha do campo de força depende, em grande parte, do sistema a ser estudado e das propriedades que serão investigadas;
- ✓ No caso de sistemas biomoleculares, os campos de força mais utilizados são CHARMM, GROMOS, AMBER, OPLS, entre outros.

Dinâmica Molecular Clássica

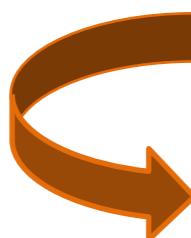
Consiste da solução numérica, passo a passo, da Equação de movimento de Newton, que pode ser descrita para um sistema atômico simples como:

$$\mathbf{F}_i(t) = m_i \mathbf{a}_i$$



Integrando-se as equações do movimento:

Velocidades



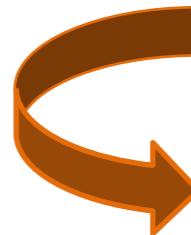
Sua integral proporciona:

Mudança de posição do átomo



Com as novas posições e velocidades de cada partícula:

Energias Potencial e Cinética do sistema

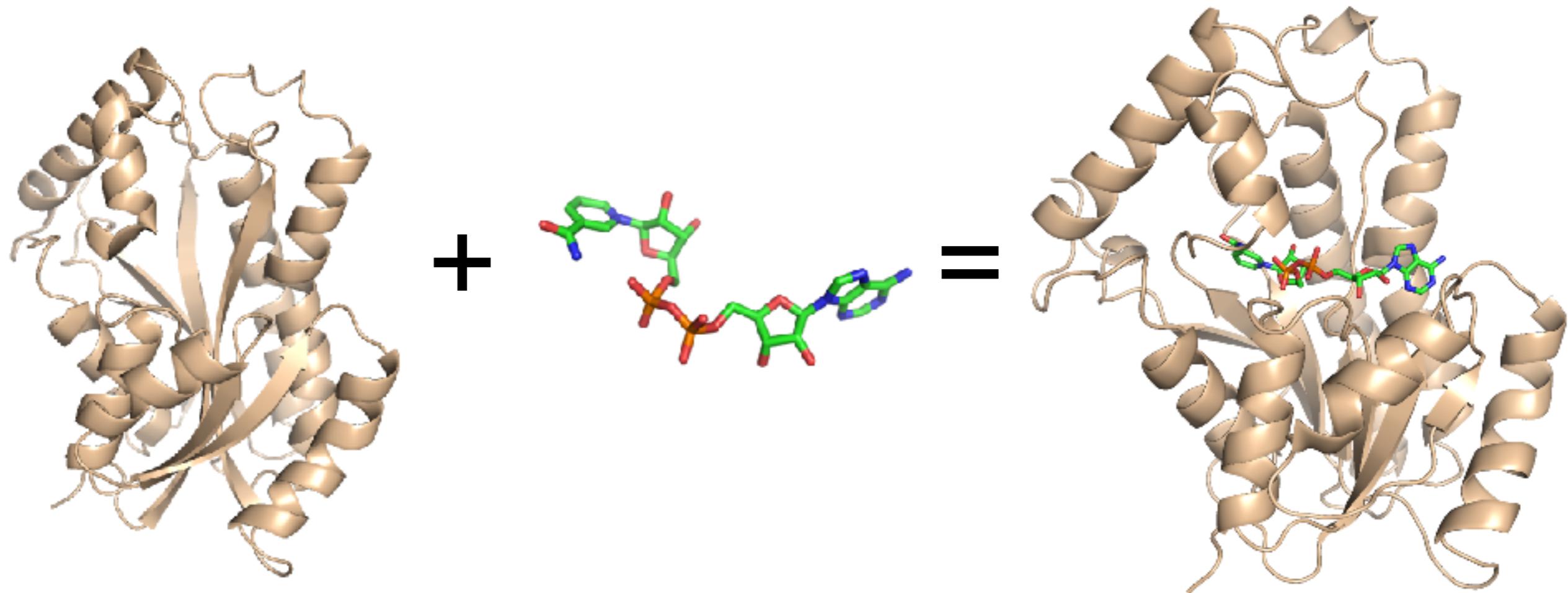


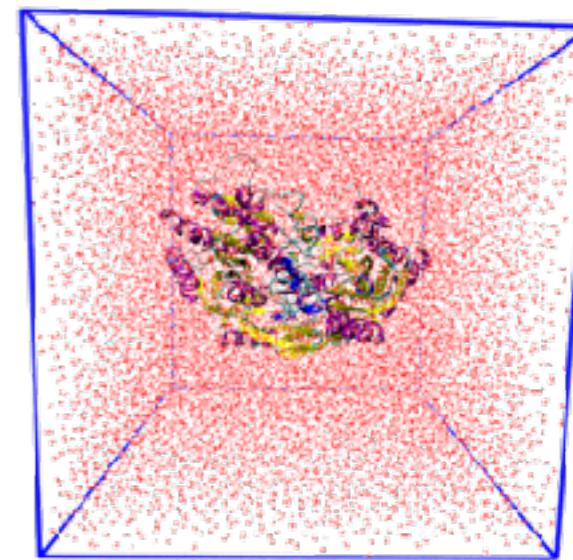
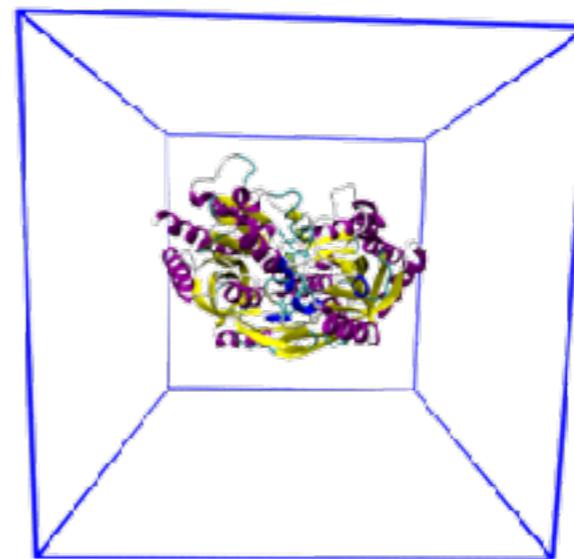
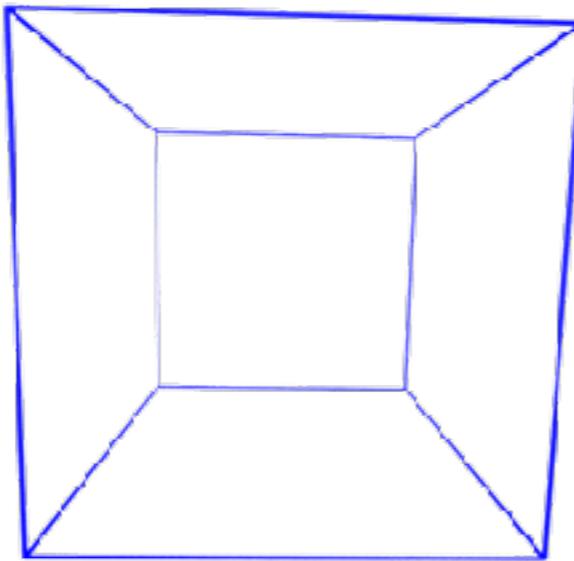
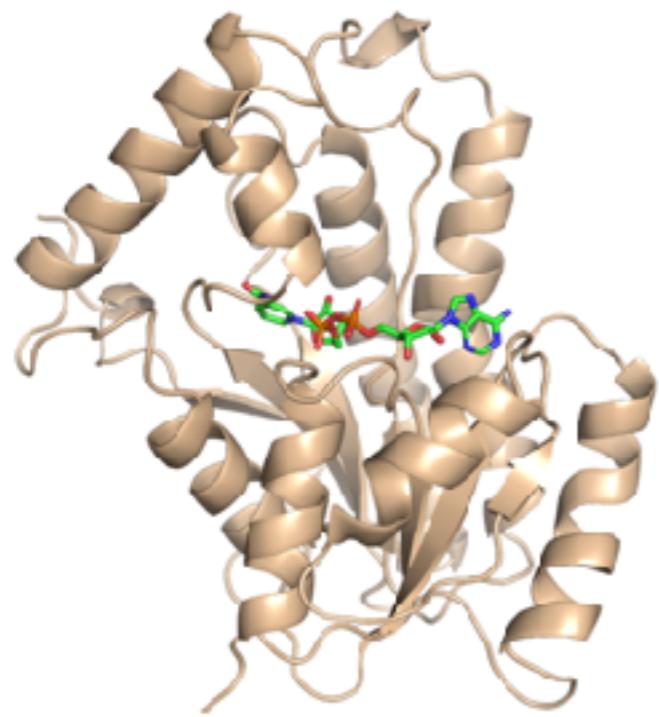
Aplicando-se sucessivamente este procedimento:

TRAJETÓRIA conj. posições e velocidades das partículas ao longo do tempo.

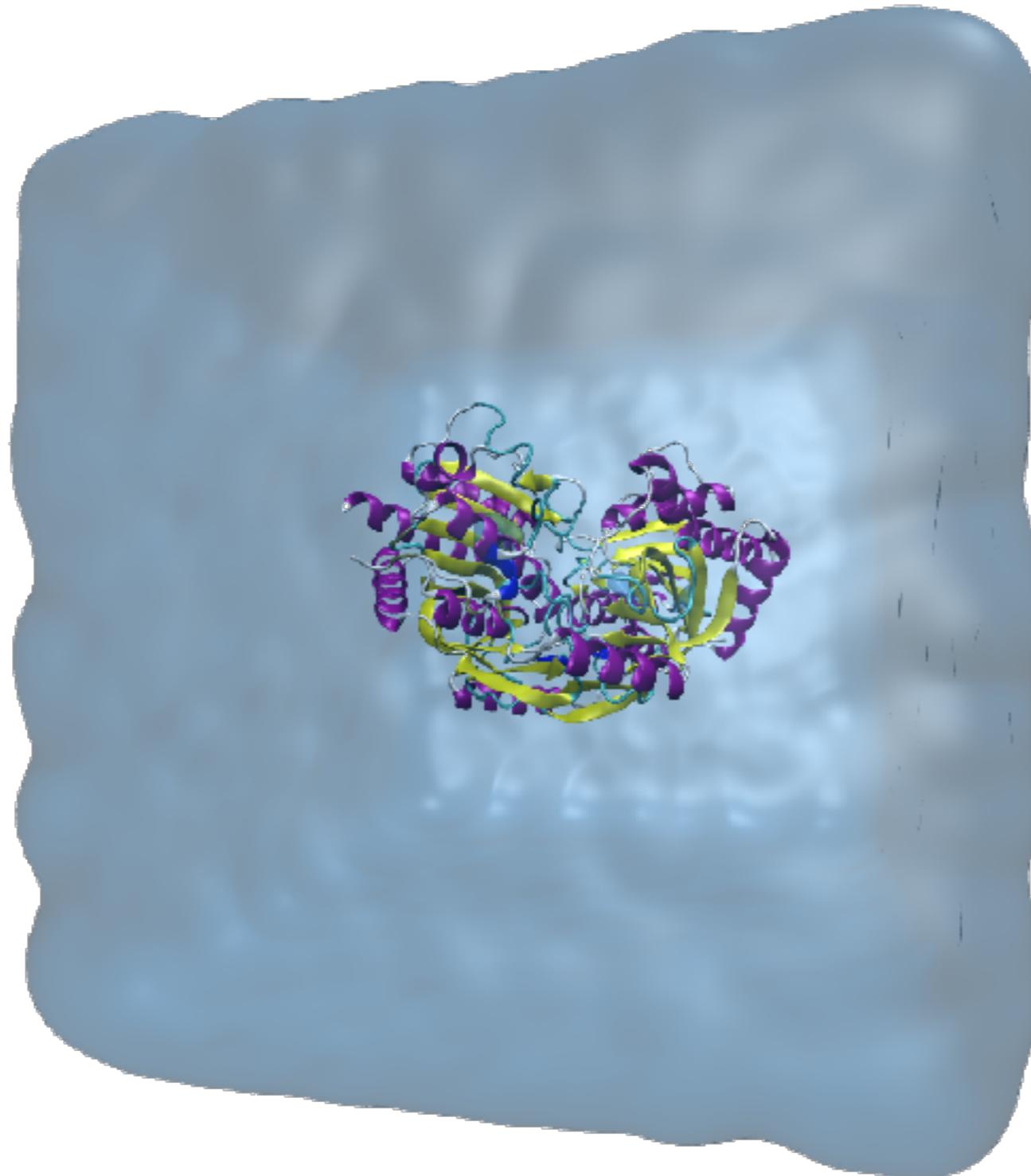
Simulando um sistema Proteína-Ligante

Montagem de um sistema proteína-ligante

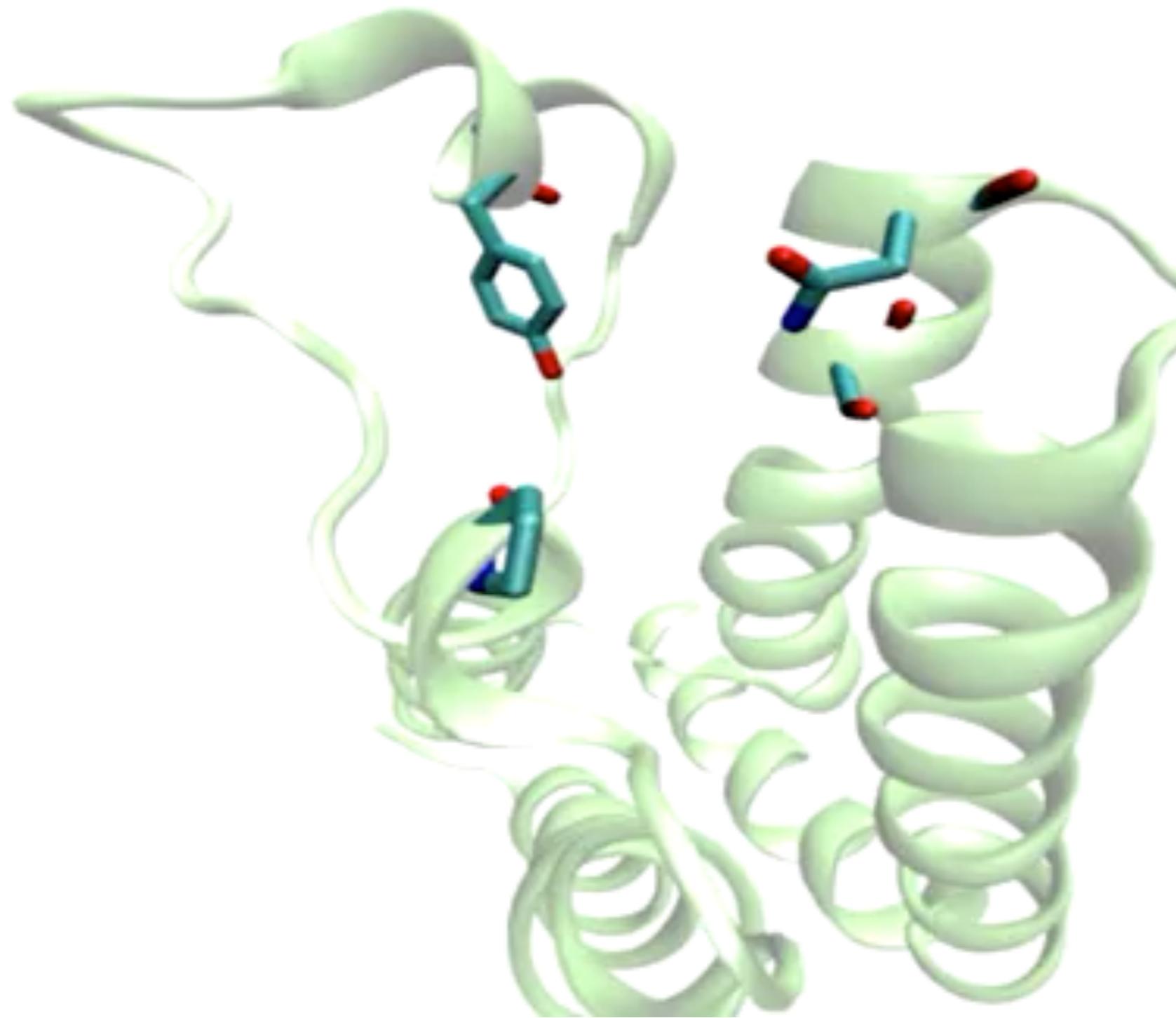




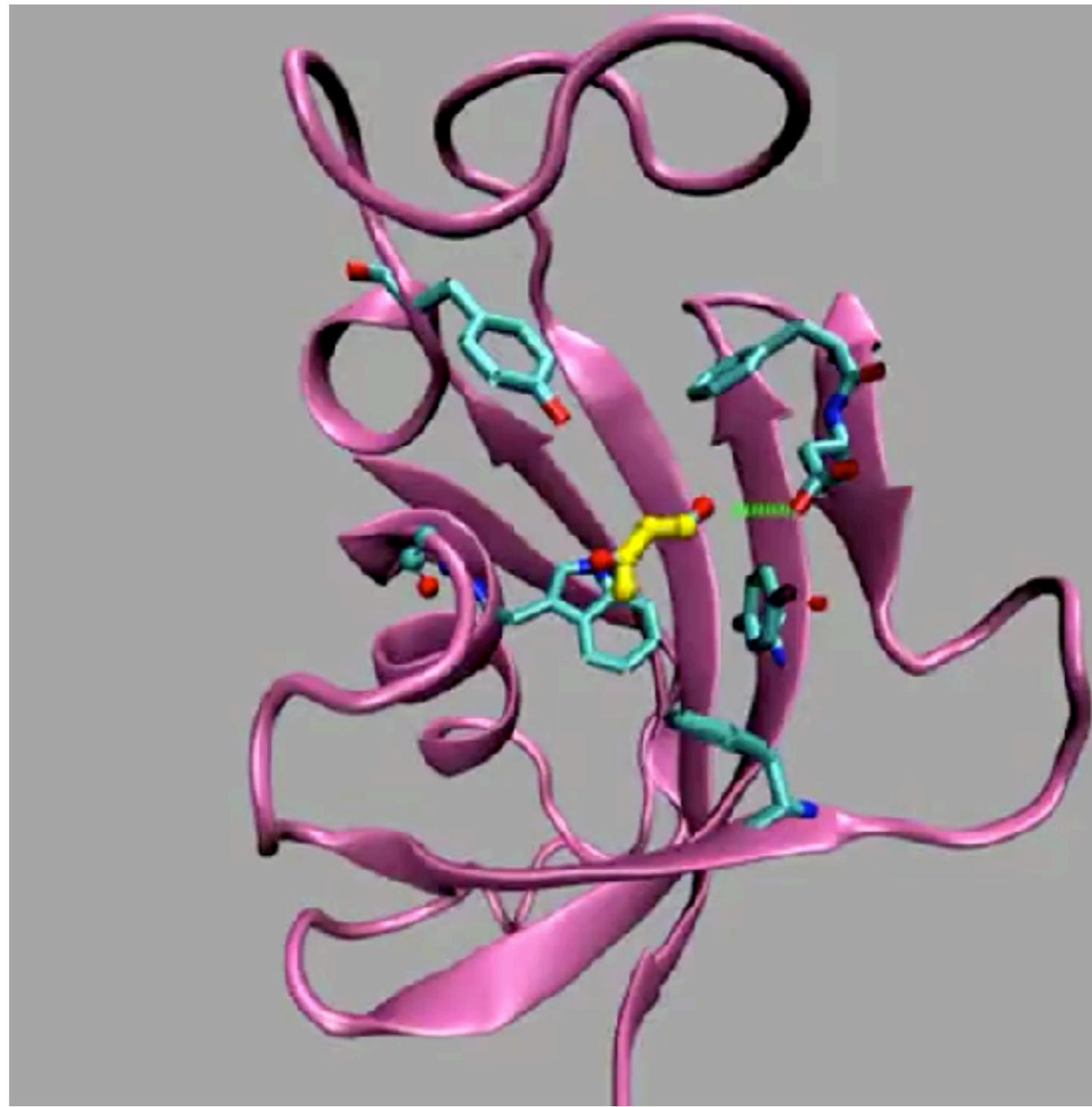
Simulando um sistema Proteína-Ligante



Simulando um sistema Proteína-Ligante



Simulando um sistema Proteína-Ligante



DM e planejamento de fármacos

Simulações de DM têm sido rotineiramente utilizadas para investigar a estrutura e função de biomoléculas e seus respectivos complexos, e interações no processo de planejamento de fármacos assistido por computador.

- ✓ Incorpora **flexibilidade** de ambos, **ligante** e **receptor**, melhorando suas interações e reforçando a complementaridade entre eles;
- ✓ A habilidade de incorporar **moléculas de solvente** nas simulações de sistemas receptor-ligante é muito importante para o entendimento do **papel da água** e seus efeitos sobre a **estabilidade** de complexos proteína-inibidor.

Preparação do sistema

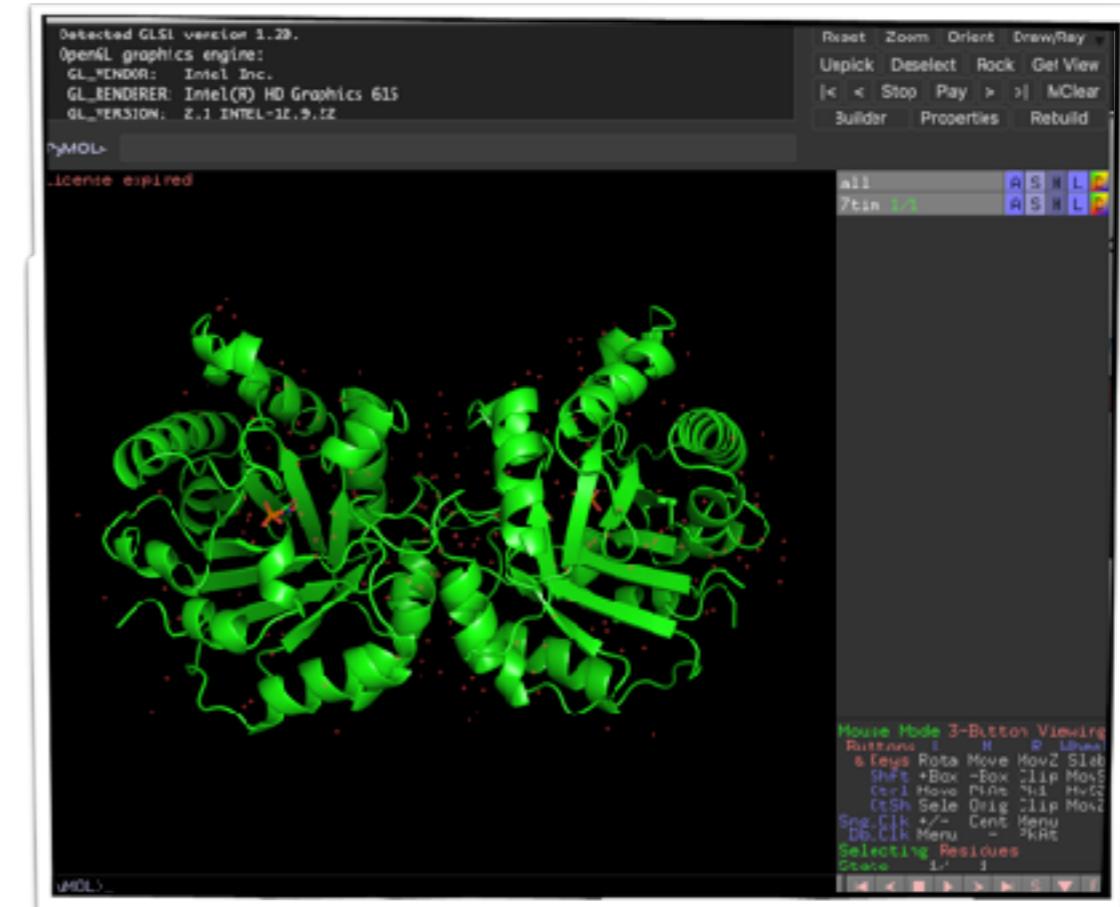
Para realizar uma simulação precisamos de um arquivo PDB da proteína de interesse

→ Neste tutorial utilizaremos a proteína Triosefósfato Isomerase (código PDB: **7TIM**)

Editar o arquivo no PyMOL

Acessar o site do PDB

The screenshot shows the PDB homepage with a sidebar on the left containing links for Welcome, Deposit, DOI Search, Validation, Analysis, Download, and Learn. The main content area features a "July Molecule of the Month" section for the AMPA Receptor. Below it, a detailed view of the 7TIM protein structure is shown, including its PDB ID (7TIM), classification (INTRAMOLECULAR OXIDOREDUCTASE), and experimental data (X-RAY DIFFRACTION, Resolution: 1.9 Å, R-Water: 1.18%). A validation report from wwPDB Validator is also displayed.



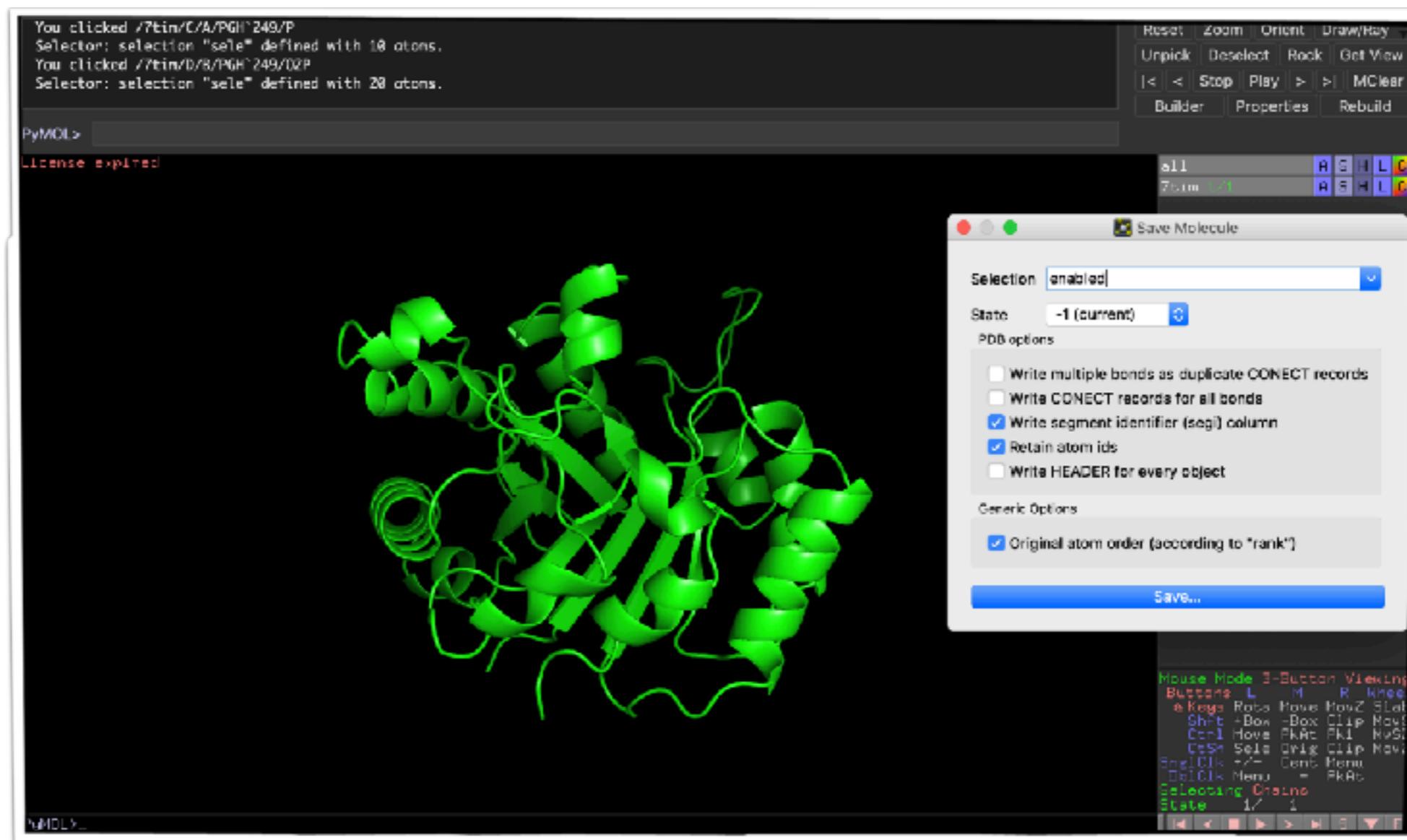
Remover as H₂O, deletar uma cadeia, assim como os ligantes

Preparação do sistema

Para realizar uma simulação precisamos de um arquivo PDB da proteína de interesse

→ Neste tutorial utilizaremos a proteína [Trioefosfato Isomerase](#) (código PDB: [7TIM](#))

Editar o arquivo no PyMOL



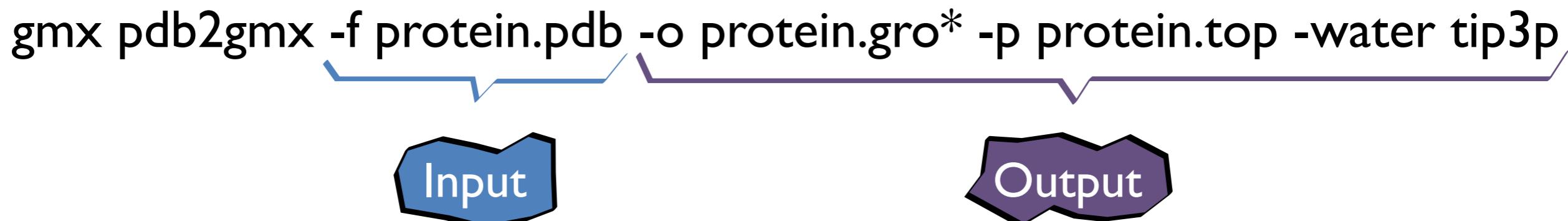
Preparação do sistema

A primeira etapa para a DM é a preparação do arquivo PDB conforme os parâmetros do campo de força selecionado.



A partir do arquivo PDB serão gerados ***três*** arquivos:

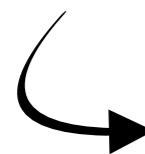
1. Arquivo de topologia (*.top*)
2. Arquivo de restrição de posições (*posre.itp*)
3. Arquivo de estrutura processado (*.gro*)



*O arquivo de saída “.gro” pode ser substituído por um arquivo “.pdb” basta especificar a extensão!

Preparação do sistema

A primeira etapa para a DM é a preparação do arquivo PDB conforme os parâmetros do campo de força selecionado.



No arquivo de topologia existem alguns parâmetros importantes:

```
;Include forcefield parameters  
#include "amber99sb.ff/forcefield.itp"
```

```
[ molecule type ]  
; Name nrexcl  
Protein_chain_B 3
```

Definição do campo de força

[atoms]		; residue	2	ALA	residue	N	atom	canc.	charge	mass	typeB	chargeB	massB
nr	type												
1	N3		2	ALA	N	1			0.1414	14.01	; atot	0.1414	
2	H		2	ALA	H1	2			0.1997	1.008	; atot	0.3411	
3	H		2	ALA	H2	3			0.1997	1.008	; atot	0.5108	
4	H		2	ALA	H3	4			0.1997	1.008	; atot	0.7405	
5	CT		2	ALA	CA	5			0.0962	12.01	; atot	0.8367	
6	HP		2	ALA	HA	6			0.0889	1.008	; atot	0.9256	
7	CT		2	ALA	CB	7		-0.0597	12.01	; atot	0.8659		
8	HC		2	ALA	HB1	8			0.03	1.008	; atot	0.8959	
9	HC		2	ALA	HB2	9			0.03	1.008	; atot	0.9259	
10	HC		2	ALA	HB3	10			0.03	1.008	; atot	0.9559	
11	C		2	ALA	C	11			0.6163	12.01	; atot	1.572	
12	O		2	ALA	O	12			-0.5722	16	; atot	1	

→ Definição do nome da proteína

Preparação do sistema

A primeira etapa para a DM é a preparação do arquivo PDB conforme os parâmetros do campo de força selecionado.



No arquivo de topologia existem alguns parâmetros importantes:

```
; Include Position restraint file
#ifndef POSRES
#include "posre.itp"
#endif

; Include water topology
#include "amber99sb.ff/tip3p.itp"

#ifndef POSRES_WATER
; Position restraint for each water oxygen
[ position_restraints ]
; i funct      fcx      fcy      fcz
; 1 1          1000    1000    1000
#endif

; Include topology for ions
#include "amber99sb.ff/ions.itp"
```

Parâmetros para atribuir restrição de posição para alguns átomos da proteína

Parâmetros de topologia das moléculas de água

Parâmetros de topologia para os íons referente ao campo de força selecionado

Preparação do sistema

A primeira etapa para a DM é a preparação do arquivo PDB conforme os parâmetros do campo de força selecionado.



- No arquivo de topologia existem alguns parâmetros importantes:
...conferindo o arquivo de topologia...

```
[ system ]  
; Name  
Protein in water  
  
[ molecules ]  
; Compound      #mols  
Protein chain B    1
```

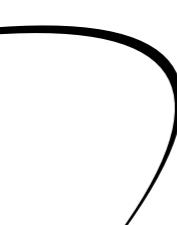
Resumo de todos os átomos
presentes no sistema de
estudo

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ (i) Definir as dimensões da caixa por meio do módulo “**editconf**”

- **c**: Centralizar a proteína no centro da caixa
- **d**: Distância da proteína até as arestas da caixa
- **bt**: Tipo de caixa que será utilizada



Parâmetros

```
gmx editconf -f protein.gro -o protein_box.gro -c -d 1.0 -bt cubic
```

Input

Output

Preparação do sistema

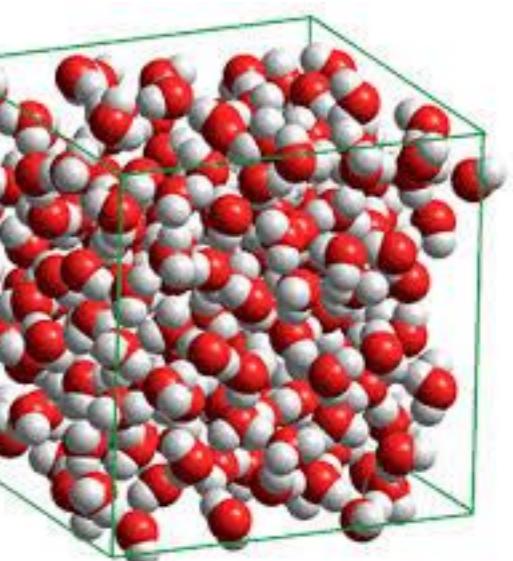
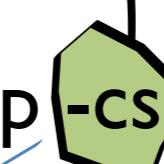
Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

- (ii) Preencher a caixa gerada com as moléculas por meio do módulo “**solute**”

- Configuração dos parâmetros de solvente

```
gmx solvate -cp protein_box.gro -p protein.top -cs -o protein_solv.gro
```

Input



Output

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

- (ii) Preencher a caixa gerada com as moléculas por meio do módulo “**solvate**”

...conferindo o arquivo de topologia...

```
[ system ]  
; Name  
Protein in water  
  
[ molecules ]  
; Compound      #mols  
Protein chain B    1  
SOL                11595
```

Resumo de todos os átomos presentes no sistema de estudo

Incluindo as moléculas de H_2O

Número de moléculas de H_2O

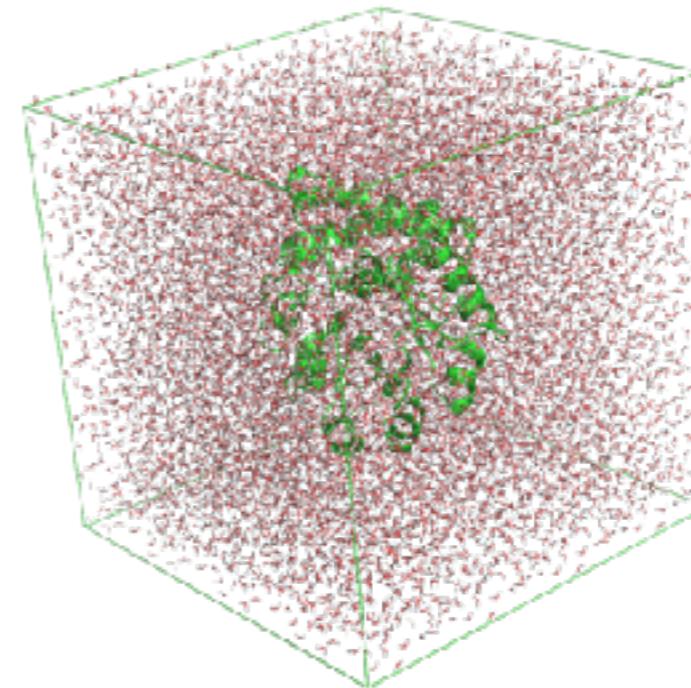
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ (ii) Preencher a caixa gerada com as moléculas por meio do módulo “**solvate**”

...conferindo o [arquivo de simulação](#)...

Converte o arquivo “.gro” em
“.pdb” para a visualização
no PyMOL



gmx editconf -f protein_solv.gro -o protein_box.pdb

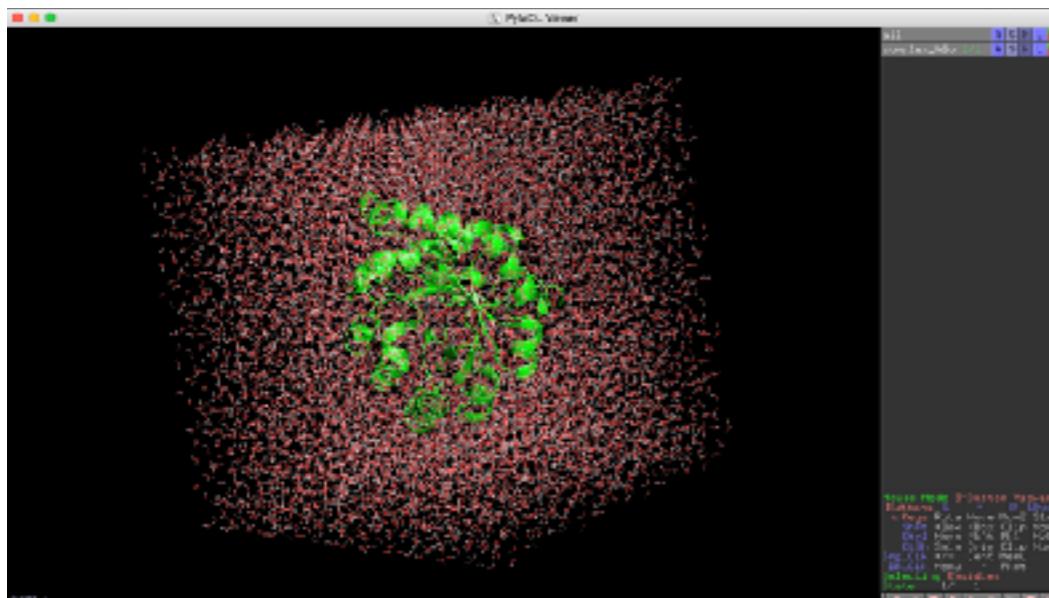
Input

Output

Preparação do sistema

Visualização do sistema no **PyMOL**

...digitar no terminal: **pymol protein_box.pdb**

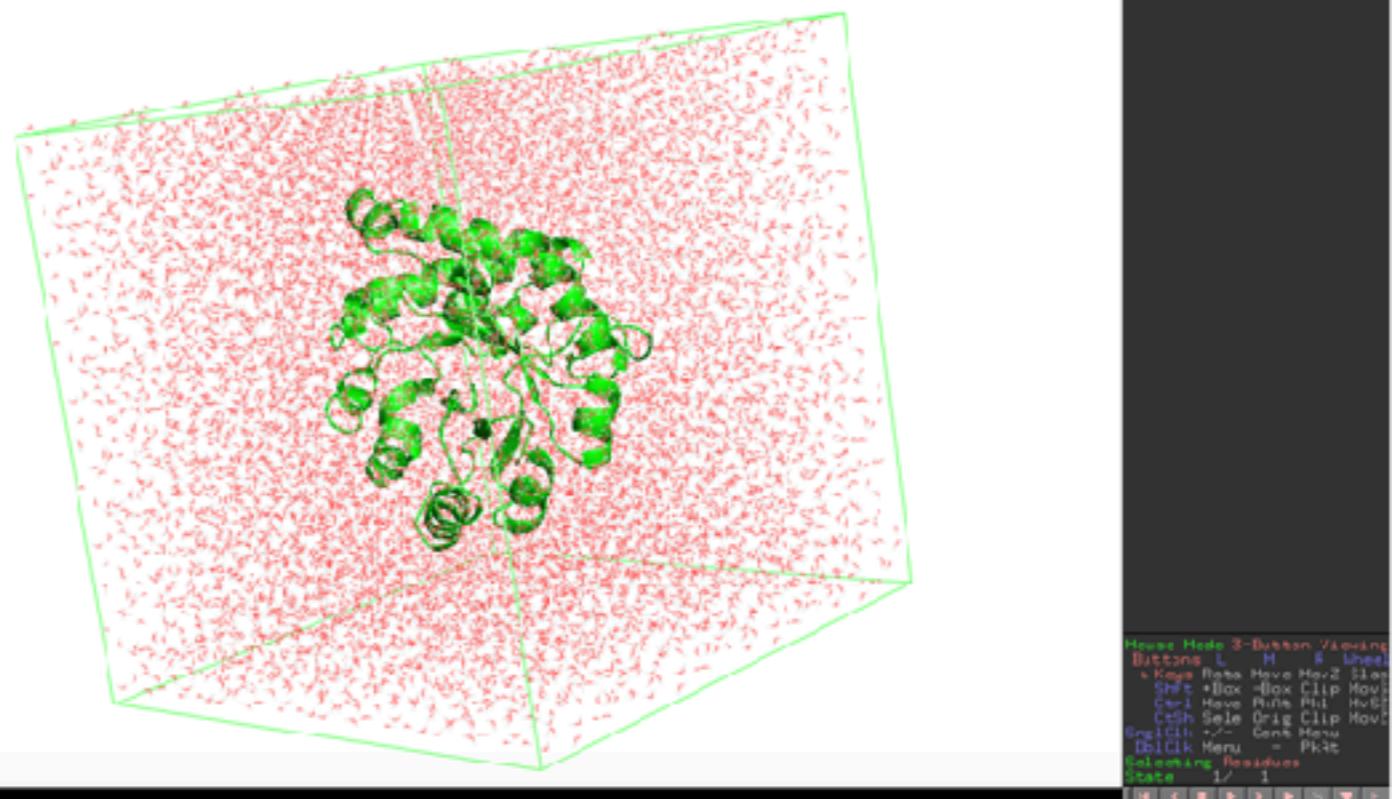


>bg_color white



>show cell

*Esse comando irá aparecer
as delimitações da caixa
construída para a
simulação*

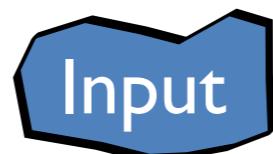


Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Adicionar os íons com o intuito de neutralizar as cargas do sistema de estudo

```
gmx grompp -f ionsmdp -c protein_solv.gro -p protein.top -o ions.tpr
```



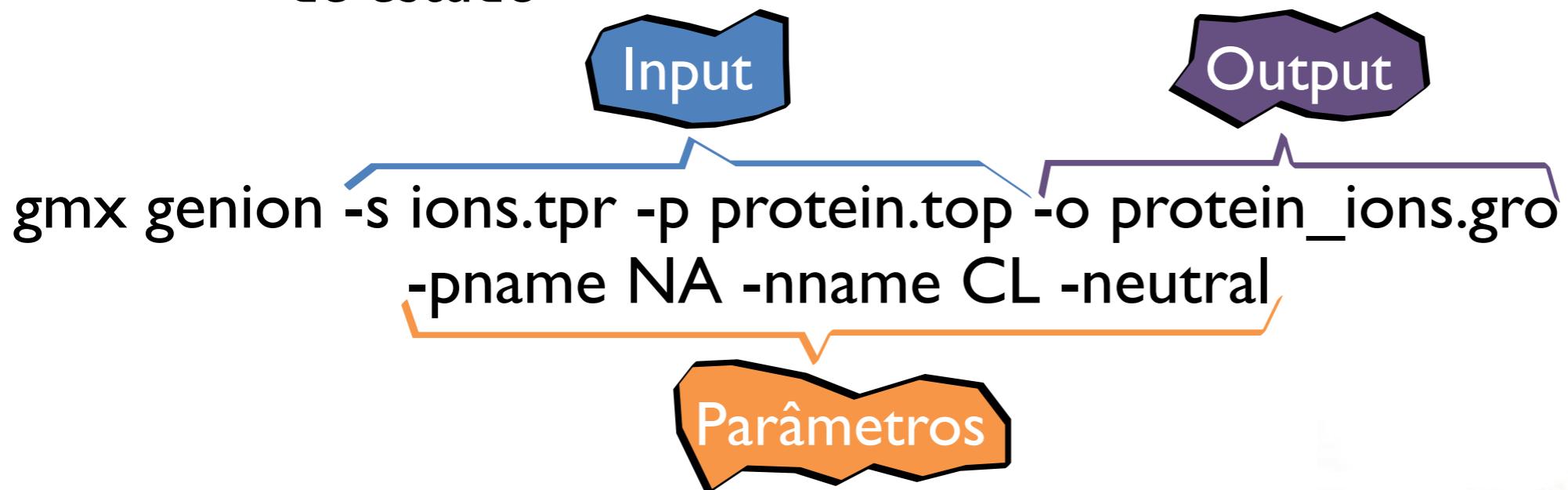
```
NOTE 2 [file protein_2.top, line 35614]:  
System has non-zero total charge: -5.000002  
Total charge should normally be an integer. See  
http://www.gromacs.org/Documentation/Floating\_Point\_Arithmetic  
for discussion on how close it should be to an integer.
```

Descreve a carga do sistema,
informando quantos íons
deverão ser adicionados

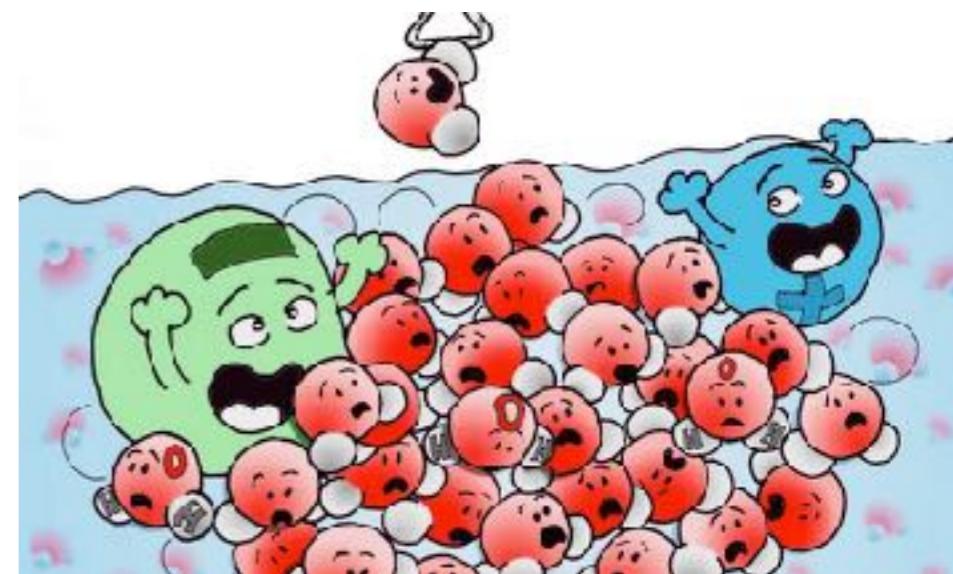
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Adicionar os íons com o intuito de neutralizar as cargas do sistema de estudo



Determina que serão adicionados o número exato de íons para neutralizar o sistema. Existe a possibilidade de adicionar os íons de acordo com uma concentração específica, i.e. “**-conc 0.15 -neutral**”



Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Adicionar os íons com o intuito de neutralizar as cargas do sistema de estudo

```
Reading file ions.tpr, VERSION 2018.1 (single precision)
Reading file ions.tpr, VERSION 2018.1 (single precision)
Will try to add 5 NA ions and 0 CL ions.
Select a continuous group of solvent molecules
Group    0 (      System) has 38578 elements
Group    1 (      Protein) has  3778 elements
Group    2 (  Protein-H) has  1883 elements
Group    3 (     C-alpha) has   247 elements
Group    4 (    Backbone) has   741 elements
Group    5 ( MainChain) has   989 elements
Group    6 ( MainChain+Cb) has  1214 elements
Group    7 ( MainChain+H) has  1231 elements
Group    8 (   SideChain) has  2547 elements
Group    9 ( SideChain-H) has   894 elements
Group   10 (  Prot-Masses) has  3778 elements
Group   11 ( non-Protein) has 34800 elements
Group   12 (      Other) has    15 elements
Group   13 (        PGH) has    15 elements
Group   14 (       Water) has 34785 elements
Group   15 (        SOL) has 34785 elements
Group   16 ( non-Water) has  3793 elements
Select a group: 15
```

Selecionar o grupo que esteja o sólvente! Serão trocadas moléculas de água por íons!!!

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Adicionar os íons com o intuito de neutralizar as cargas do sistema de estudo

...conferindo o arquivo de topologia...

```
[ molecules ]
; Compound          #mols
Protein_chain_B    1|
SOL                11590
NA                 5
```

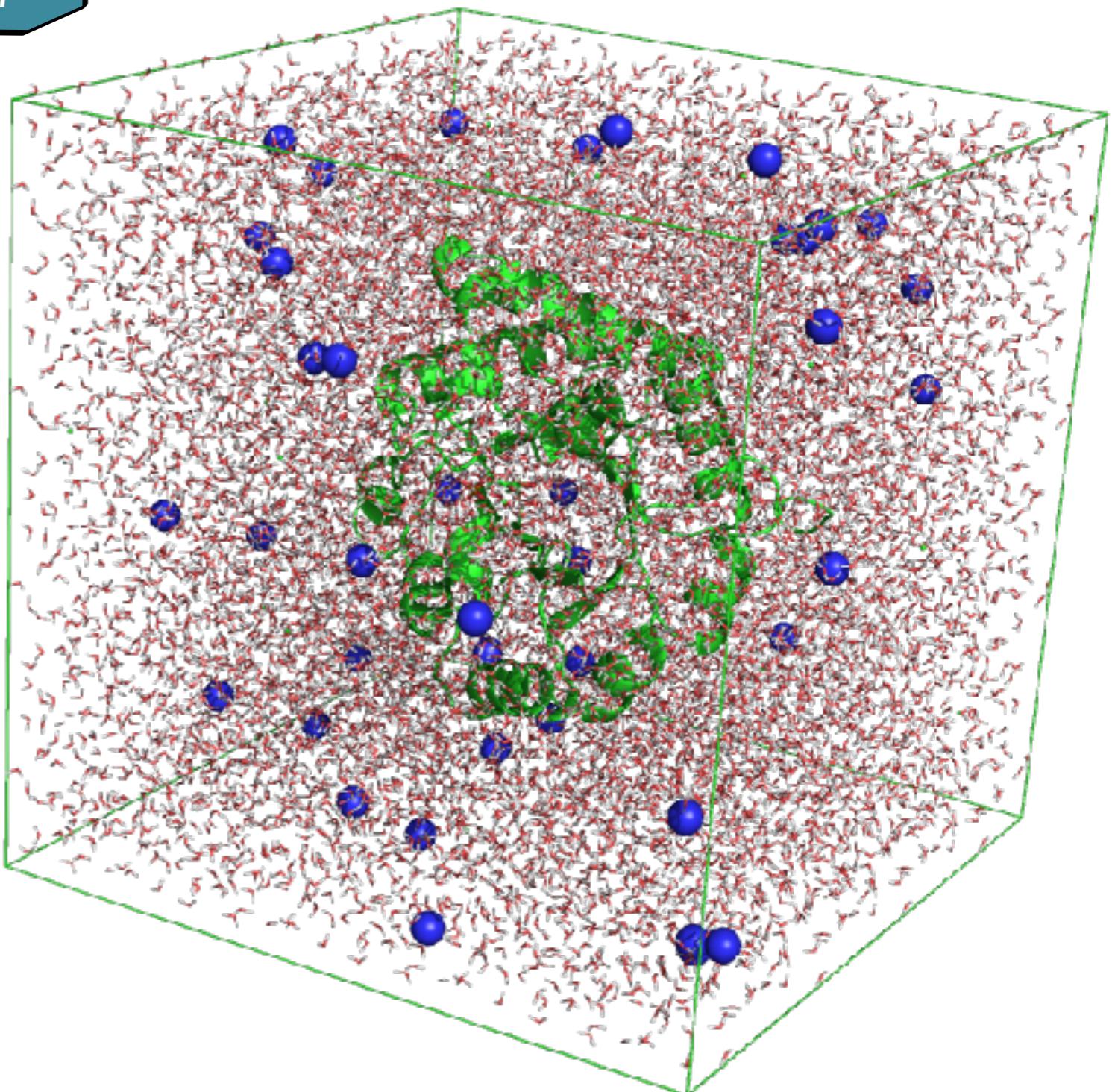
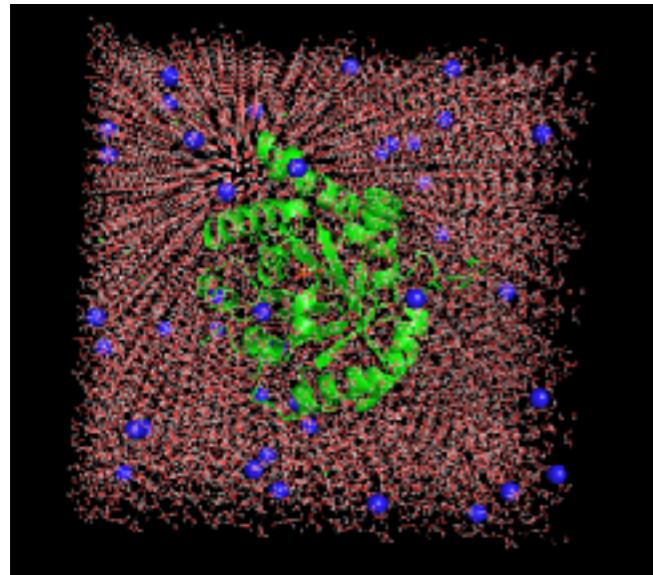
Resumo de todos os átomos presentes no sistema de estudo

Foram trocadas cinco moléculas de **H₂O** por cinco íons de **Na⁺**

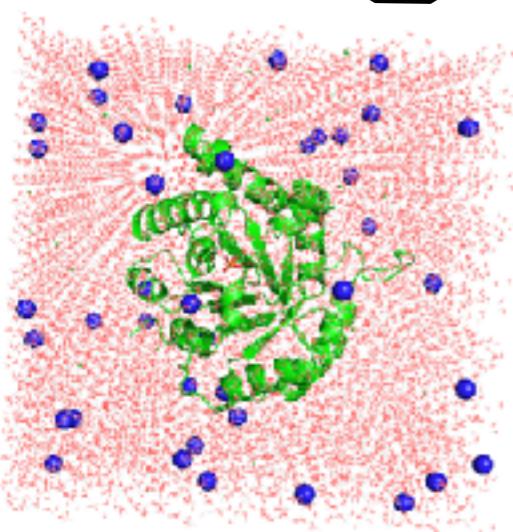
Preparação do sistema

Visualização do sistema no ***PyMOL***

...digitar no terminal: **pymol protein_ions.pdb**



>bg_color white

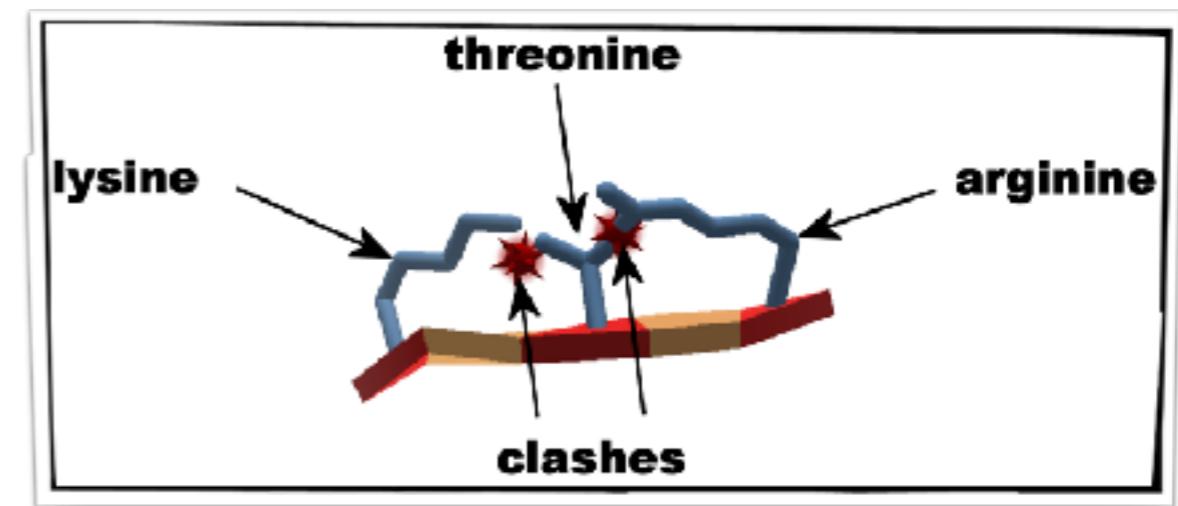


Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Minimização do sistema para evitar geometrias incorretas, assim como, choques entre cadeias laterais do resíduos

Etapa de pré-
processamento



gmx grompp -f minim.mdp -c protein_ions.gro -p protein.top -o em.tpr

Input

Output

This run will generate roughly 3 Mb of data



Fornece uma estimativa de espaço!

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Minimização do sistema para evitar geometrias incorretas, assim como, choques entre cadeias laterais do resíduos

Esta etapa irá gerar quatro arquivos:

- (i) em.log: arquivo de texto do log do processo de minimização
- (ii) em.edr: arquivo binário de energia
- (iii) em.trr: arquivo binário da trajetória
- (iv) em.gro: Estrutura final minimizada

...opção para impacientes!

gmx mdrun -deffnm em

-v

Input

```
Step= 481, Dmax= 9.7e-03 nm, Epot= -5.70880e+05 Fmax= 3.86465e+03, atom= 519
Step= 483, Dmax= 5.8e-03 nm, Epot= -5.70908e+05 Fmax= 5.01022e+03, atom= 519
Step= 484, Dmax= 7.0e-03 nm, Epot= -5.70936e+05 Fmax= 5.72636e+03, atom= 519
Step= 485, Dmax= 8.4e-03 nm, Epot= -5.70953e+05 Fmax= 7.06862e+03, atom= 519
Step= 486, Dmax= 1.0e-02 nm, Epot= -5.70966e+05 Fmax= 8.36949e+03, atom= 519
Step= 488, Dmax= 6.0e-03 nm, Epot= -5.71068e+05 Fmax= 8.50719e+02, atom= 519

writing lowest energy coordinates.

Steepest Descents converged to Fmax < 1000 in 489 steps
Potential Energy      = -5.7106756e+05
Maximum force          =  8.5071869e+02 on atom 519
Norm of force           =  2.7358357e+01
```

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM



Minimização do sistema para evitar geometrias incorretas, assim como, choques entre cadeias laterais do resíduos

Gráfico no **Xmgrace**

A partir do arquivo de energia obtido (.edr) criar um arquivo para plotar os dados

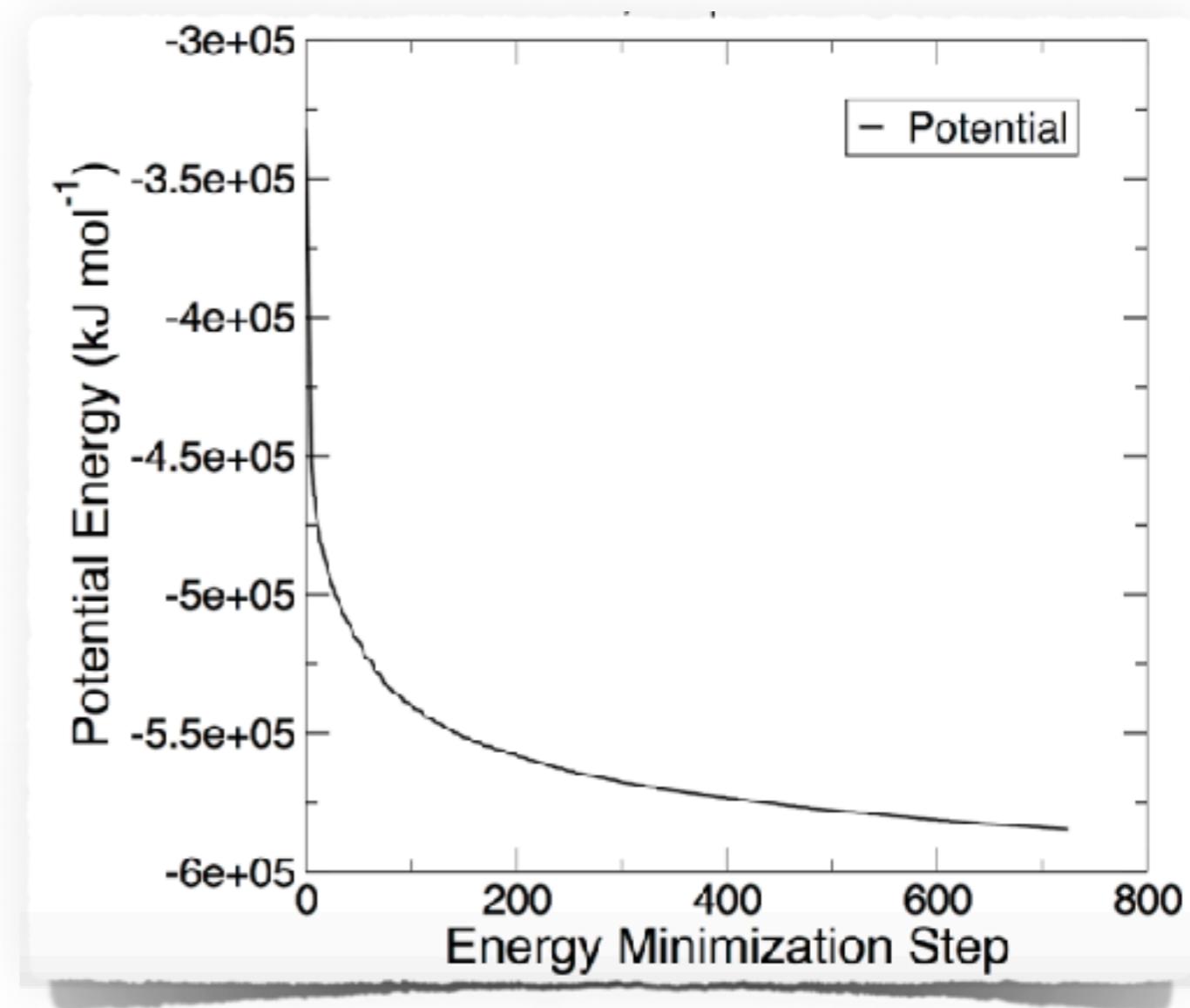
```
gmx energy -f em.edr -o potential.xvg
```

Input Output

I O

O

xmgrace potential.xvg



Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM



Equilibrar o as moléculas do solvente (H_2O) ao redor da proteína, permitindo uma melhor acomodação das H_2O nas cavidades da molécula de estudo

Para garantir que apenas as moléculas de H_2O se movam, utilizaremos aqui o arquivo “posre.itp”

```
[ position_restraints ]
; atom type    fx   fy   fz
  1    1  1000  1000  1000
  5    1  1000  1000  1000
  7    1  1000  1000  1000
 11   1  1000  1000  1000
 12   1  1000  1000  1000
 13   1  1000  1000  1000
 15   1  1000  1000  1000
 17   1  1000  1000  1000
 20   1  1000  1000  1000
 23   1  1000  1000  1000
 26   1  1000  1000  1000
 28   1  1000  1000  1000
 29   1  1000  1000  1000
```

Geração de velocidades para uma temperatura específica

```
; Velocity generation
gen_vel = yes
gen_temp = 300
gen_seed = -1
```

Aplica uma força sobre os átomos pesados da proteína

```
define = -DPOSRES ; position restrain the protein
; Run parameters
integrator = md ; leap-frog integrator
nsteps = 50000 ; 2 * 50000 = 100 ps
dt = 0.002 ; 2 fs
```

gmx grompp -f nvtmdp -c em.gro -r em.gro -p topol.top -o nvt.tpr

Input

Output

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM



Equilibrar o as moléculas do solvente (H_2O) ao redor da proteína, permitindo uma melhor acomodação das H_2O nas cavidades da molécula de estudo

Esta etapa irá gerar quatro arquivos:

- (i) nvt.log: arquivo de texto do log do processo de minimização
- (ii) nvt.edr: arquivo binário de energia
- (iii) nvt.trr: arquivo binário da trajetória
- (iv) nvt.gro: Estrutura final minimizada

...opção para impacientes!

gmx mdrun -deffnm nvt

-v

Input

O comando “**mdrun**” irá executar a simulação e incluindo a opção “**-v**” teremos uma estimativa de quanto tempo irá levar

```
Using 4 MPI threads
Back Off! I just backed up nvt.trr to ./#nvt.trr.1#
Back Off! I just backed up nvt.edr to ./#nvt.edr.1#
starting mdrun 'Protein in water'
50000 steps, 100.0 ps.
step 0imb F 6%
step 100 Turning on dynamic load balancing, because the performance
step 4400, will finish Mon Jul 22 09:58:26 2019 vol 0.93 imb F 1%
```

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Uma vez equilibrada a temperatura, precisamos equilibrar a pressão do sistema

Para garantir que apenas as moléculas de H_2O se movam, utilizaremos aqui o arquivo “posre.itp”

Aplica uma força sobre os átomos pesados da proteína

```
[ position_restraints ]
; atom type   fx   fy   fz
  1    1  1000  1000  1000
  5    1  1000  1000  1000
  7    1  1000  1000  1000
 11   1  1000  1000  1000
 12   1  1000  1000  1000
 13   1  1000  1000  1000
 15   1  1000  1000  1000
 17   1  1000  1000  1000
 20   1  1000  1000  1000
 23   1  1000  1000  1000
 26   1  1000  1000  1000
 28   1  1000  1000  1000
 29   1  1000  1000  1000
```

Como utilizaremos a mesma temperatura do passo anterior não é necessário gerar velocidades

```
; Velocity generation
gen_vel = no
```

E utilizamos uma opção para continuar a partir da etapa anterior

```
continuation = yes ; Restarting after NVT
```

```
define = -DPOSRES ; position restrain the protein
; Run parameters
integrator = md ; leap-frog integrator
nsteps = 50000 ; 2 * 50000 = 100 ps
dt = 0.002 ; 2 fs
```

```
gmx grompp -f nptmdp -c nvt.gro -r nvt.gro -t nvt.cpt -p protein.top -o npt.tpr
```

Input

Output

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ *Uma vez equilibrada a temperatura, precisamos equilibrar a pressão do sistema*

Esta etapa irá gerar quatro arquivos:

- (i) *npt.log*: arquivo de texto do log do processo de minimização
- (ii) *npt.edr*: arquivo binário de energia
- (iii) *npt.trr*: arquivo binário da trajetória
- (iv) *npt.gro*: Estrutura final minimizada

...opção para impacientes!

gmx mdrun -deffnm npt

-v

Input

O comando “**mdrun**” irá executar a simulação e incluindo a opção “**-v**” teremos uma estimativa de quanto tempo irá levar

```
Using 4 MPI threads
starting mdrun 'Protein in water'
50000 steps, 100.0 ps.
step 100, will finish Mon Jul 22 10:48:56 2019
step 150 Turning on dynamic load balancing, because the performance
step 1000, will finish Mon Jul 22 10:46:49 2019 0l 0.93 imb F 2%
```

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Uma vez equilibrada a temperatura, precisamos equilibrar a pressão do sistema

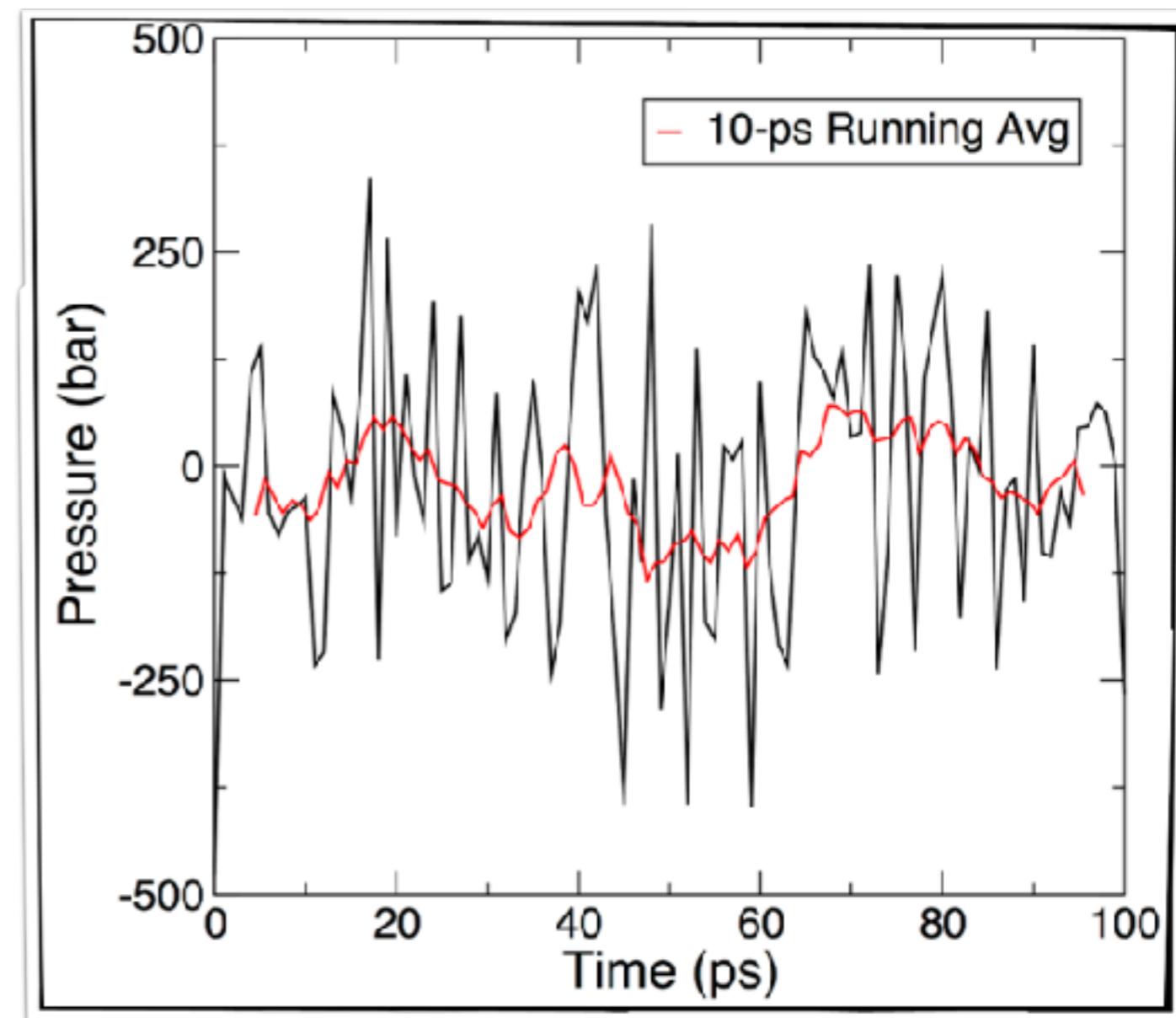
Gráfico no Xmgrace

A partir do arquivo de energia obtido (.edr) criar um arquivo para plotar os dados

```
gmx energy -f npt.edr -o pressure.xvg
```

Input Output
I8 0

xmgrace pressure.xvg



Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ *Com o sistema devidamente equilibrado, podemos iniciar com a fase de produção do dinâmica molecular!*

Nesta etapa não são mais aplicadas restrições a nenhum tipo de átomo presente no sistema

Todos os átomos estão livres para se movimentar

Não é mais aplicada a opção “-DPOSRE” e sim um integrador para a DM “md”

```
; Run parameters
integrator          = md           ; leap-frog integrator
nsteps              = 500000       ; 2 * 250000 = 500 ps (1 ns)
dt                 = 0.002        ; 2 fs
```

Continuamos sem gerar novas velocidades

```
; Velocity generation
gen_vel            = no
```

gmx grompp -f md.mdp -c npt.gro -t npt.cpt -p protein.top -o md.tpr

Input

Output

Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ *Com o sistema devidamente equilibrado, podemos iniciar com a fase de produção do dinâmica molecular!*

Esta etapa irá gerar quatro arquivos:

- (i) *md.log: arquivo de texto do log do processo de minimização*
- (ii) *md.edr: arquivo binário de energia*
- (iii) *md.xtc: arquivo binário da trajetória*
- (iv) *md.gro: Estrutura final minimizada*

...opção para impacientes!

gmx mdrun -deffnm md

-v

Input

O comando “**mdrun**” irá executar a simulação e incluindo a opção “**-v**” teremos uma estimativa de quanto tempo irá levar

```
Using 4 MPI threads
Back Off! I just backed up md.xtc to ./#md.xtc.1#
Back Off! I just backed up md.edr to ./#md.edr.1#
starting mdrun 'Protein in water'
500000 steps, 1000.0 ps.
step 100, will finish Mon Jul 22 14:44:24 2019
step 150 Turning on dynamic load balancing, because the performance
step 1000, will finish Mon Jul 22 14:15:38 2019 0.94 imb F 2%
```

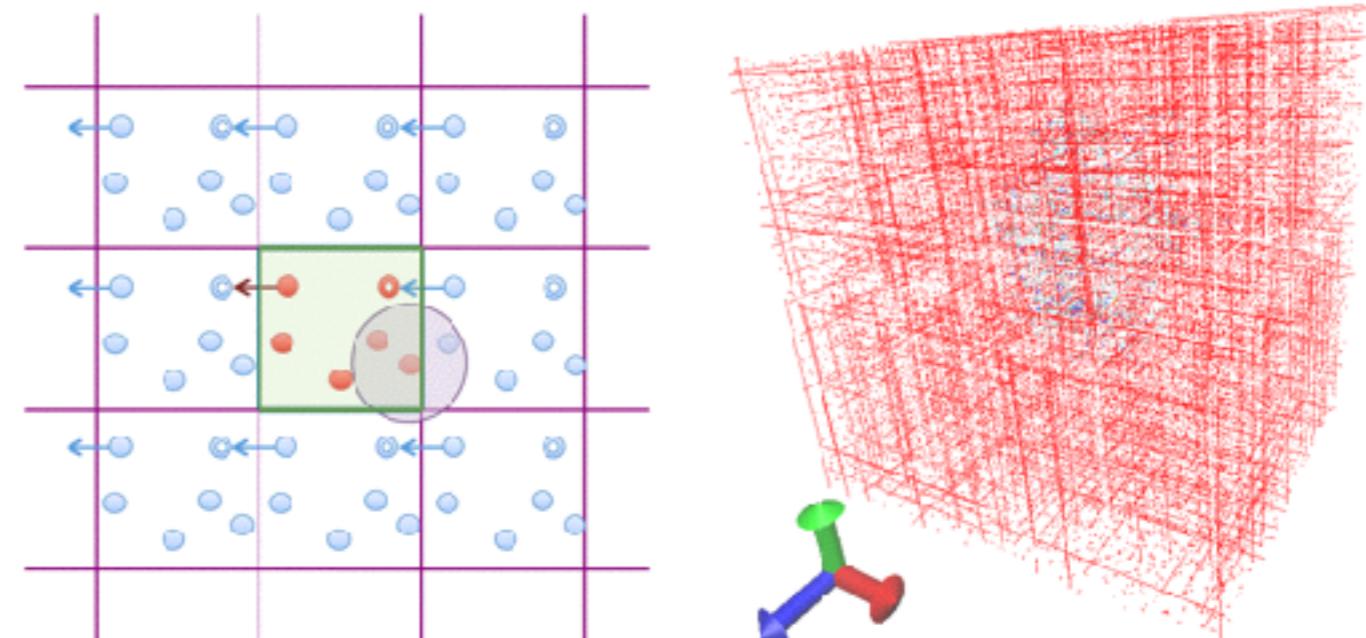
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação

Condições periódicas de contorno (PBC)

A partir deste ponto iremos centralizar todos os frames da proteína no centro da caixa do sistema



```
gmx trjconv -s md.tpr -f md.xtc -pbc mol -center -o md_noPBC.xtc
```

Input

Parâmetros

Output

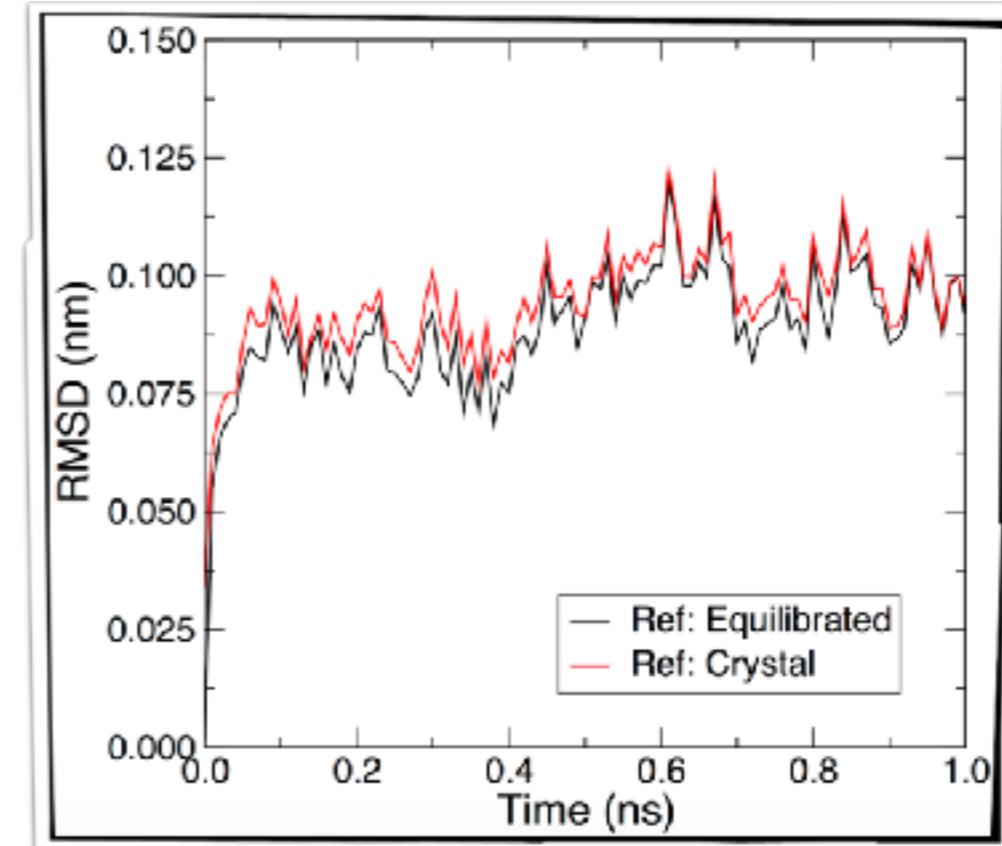
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação

Desvio médio quadrático (RMSD)

Descreve a variação da estrutura da proteína ao longo da simulação em relação a estrutura inicial



```
gmx rms -s md.tpr -f md_noPBC.xtc -o rmsd.xvg -tu ns
```

Input

Output

Parâmetros

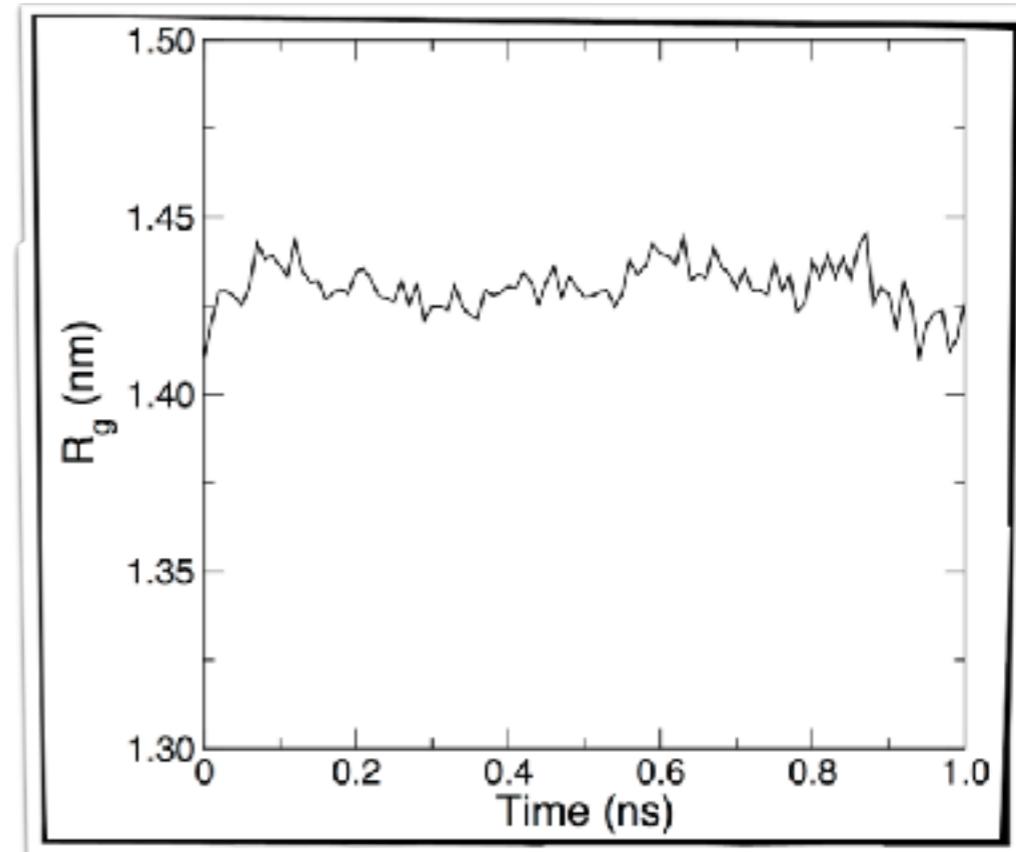
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação

Raio de giração (RG)

Descreve a compactação da estrutura proteína de estudo ao longo da simulação



gmx gyrate -s md.tpr -f md_noPBC.xtc -o gyrate.xvg

Input

Output

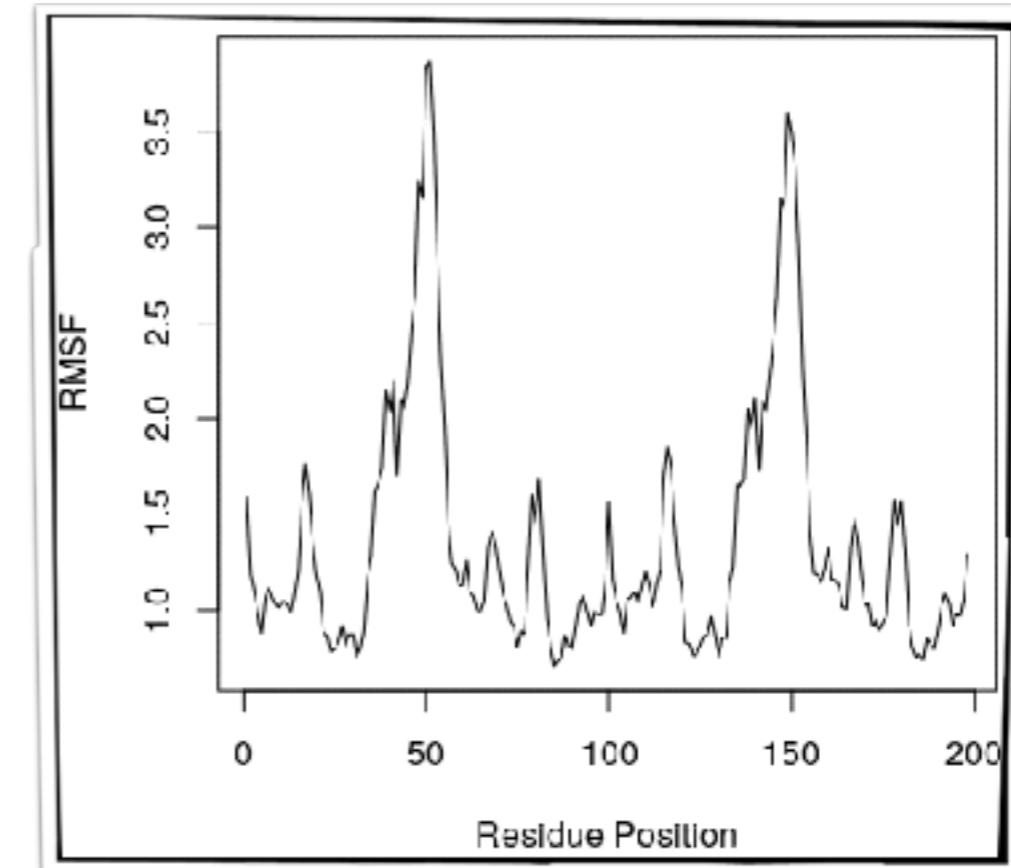
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação

Flutuação média quadrática (RMSF)

Descreve a flutuação de cada resíduo durante a simulação, fornece um indício sobre a flexibilidade de regiões na proteína



gmx rmsf -s md.tpr -f md_noPBC.xtc -o rmsf

Input

Output

Preparação do sistema

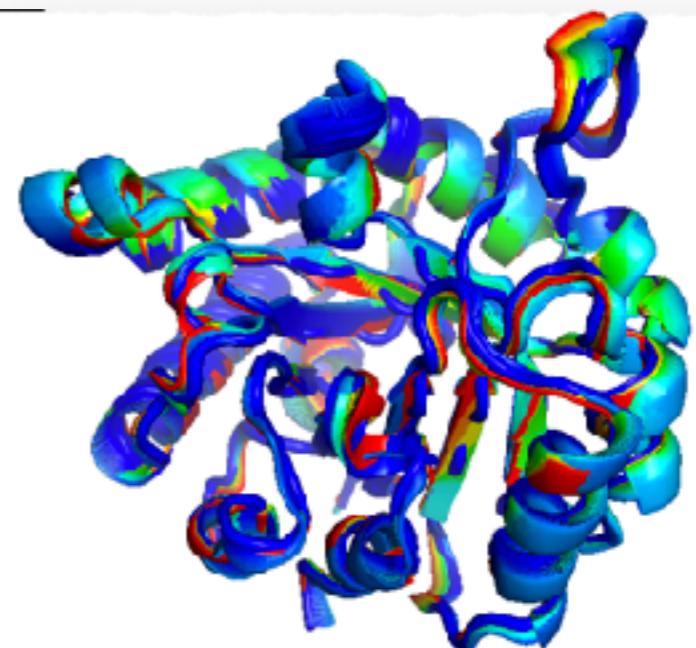
Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

Análise dos componentes principais (PCA)

```
gmx covar -f md_noPBC.pdb -s md.tpr
```

```
gmx anaeig -f md_noPBC.pdb -v eigenvec.trr -eig eigenval.xvg -s md.gro  
-first 1 -last 3 -filt filtered.pdb -rmsf rmsf_pca
```

MdLovoFit



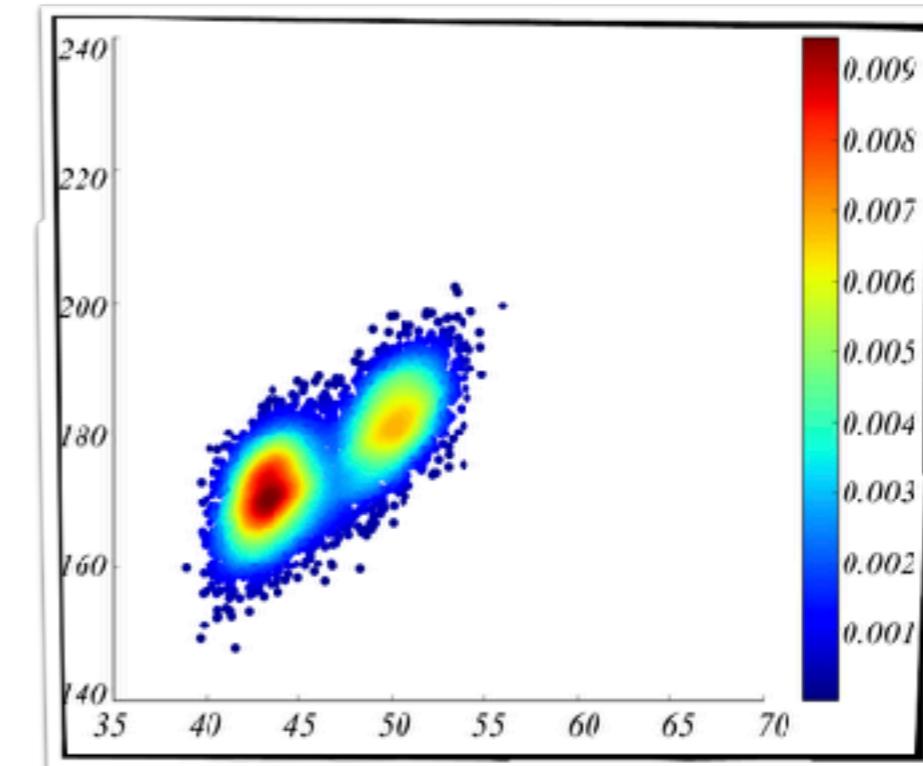
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação



Pacote de análises desenvolvido
em python 2.7



The "Geometric Analysis" script that was developed to carry out geometric analysis on protein structures. This script support as input MultiPDB and XTC files, and the available analysis are:

- 1 – Pincer angle.
- 2 – Dihedral angle.
- 3 – Triangle area.
- 4 – RMSD
- 5 – RG

Simulação por meio de dinâmica molecular clássica de um sistema *proteína-ligante*

Preparação do sistema proteína-ligante

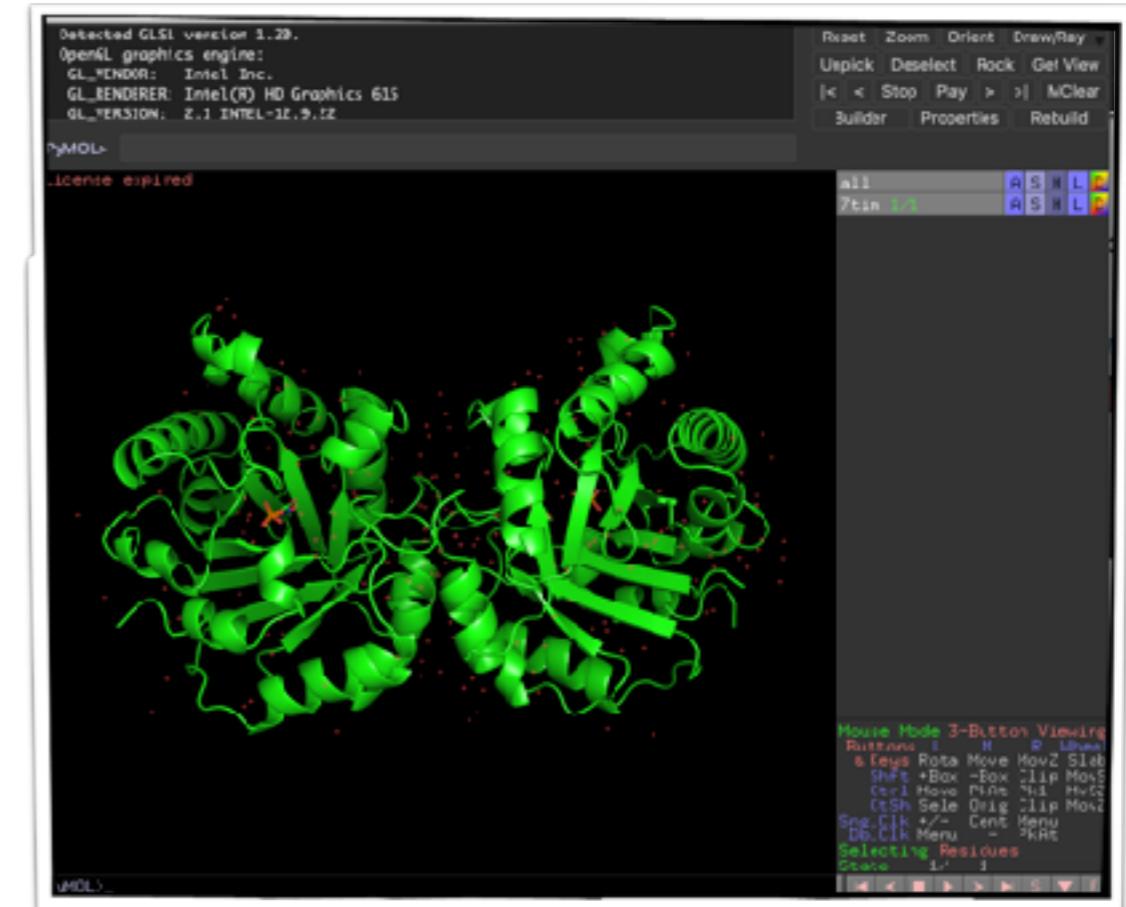
Para realizar uma simulação precisamos de um arquivo PDB da proteína de interesse

→ Neste tutorial utilizaremos a proteína Triosefósforo Isomerase (código PDB: **7TIM**)

Editar o arquivo no PyMOL

Acessar o site do PDB

The screenshot shows the PDB homepage with a sidebar on the left containing links for Welcome, Deposit, DOI Search, Validation, Analysis, Download, and Learn. The main content area features a "July Molecule of the Month" section for the AMPA Receptor. Below it, a detailed entry for 7TIM is shown, including a ribbon model of the protein, its classification as an intramolecular oxidoreductase, and experimental data from X-ray diffraction at 1.9 Å resolution. A validation report from wwPDB Validator is also displayed.



Remover as H₂O, deletar uma cadeia

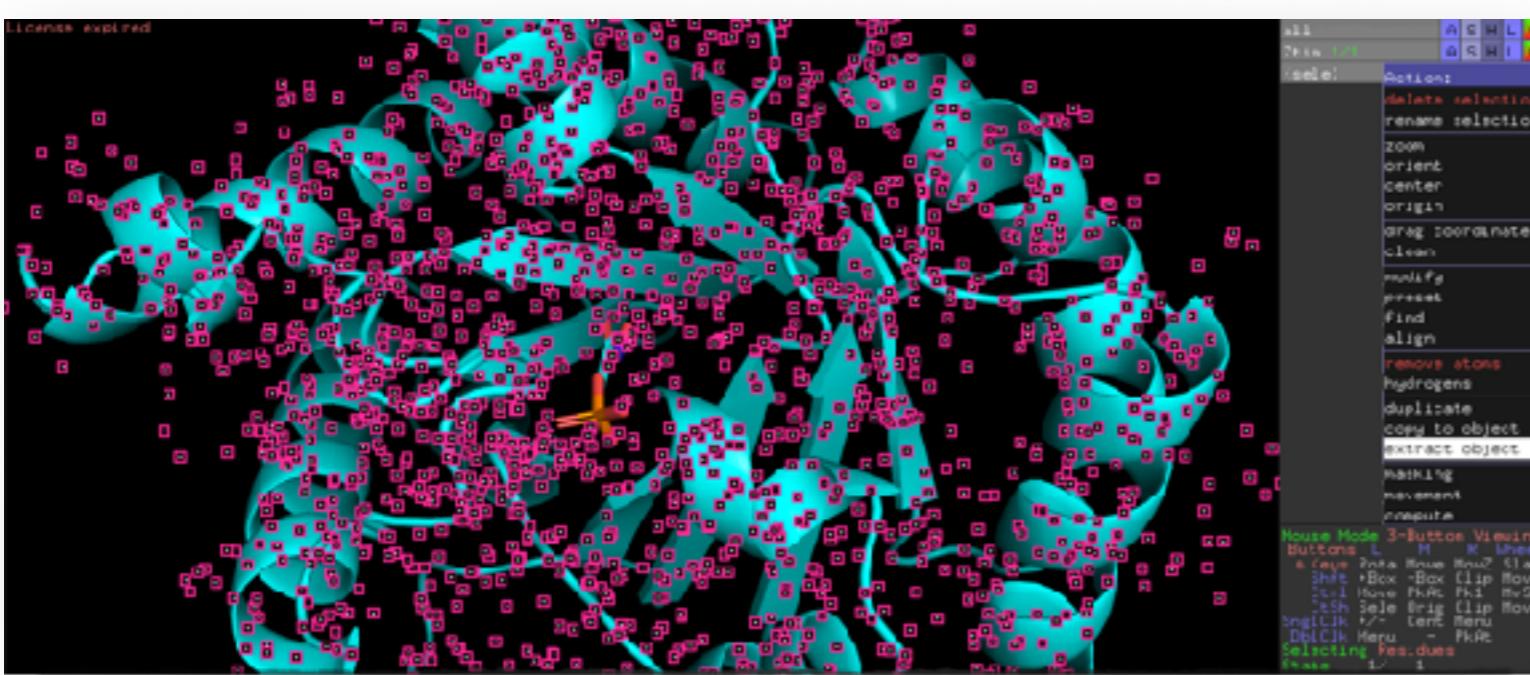
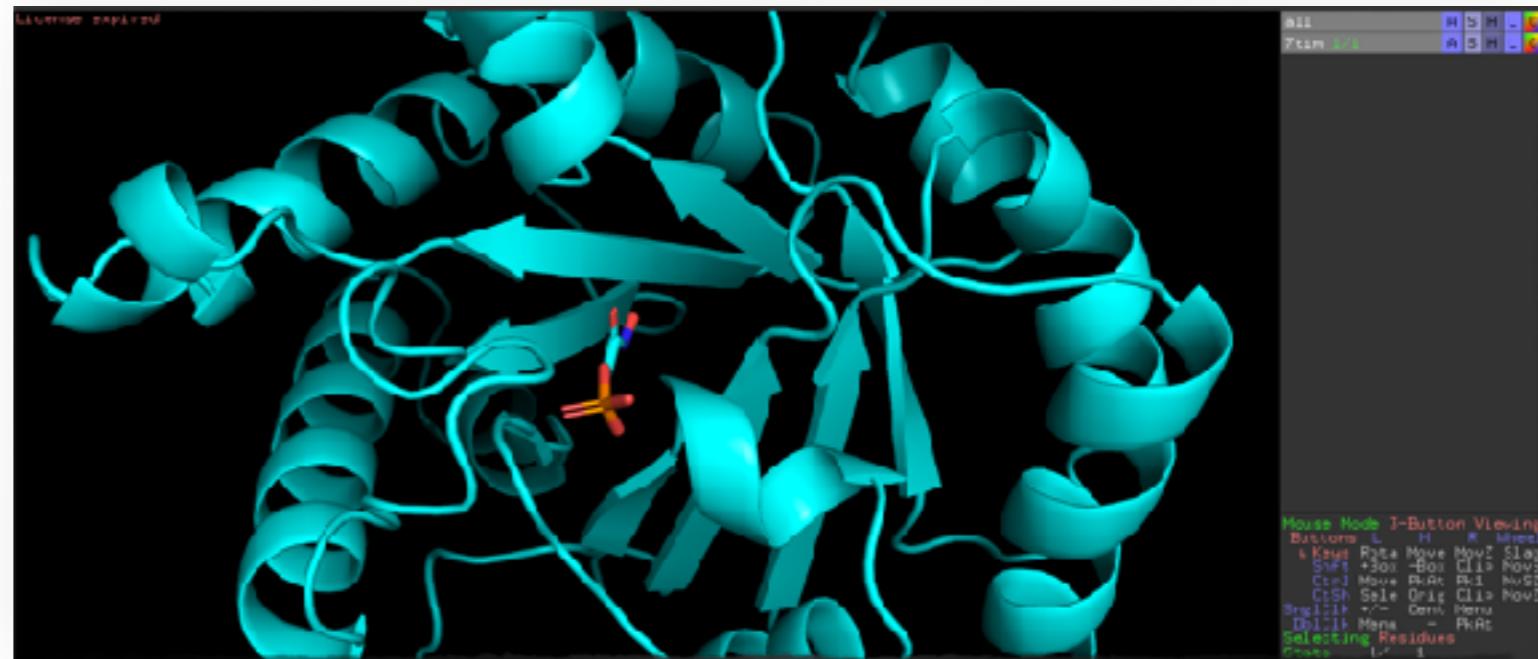
Preparação do sistema proteína-ligante

Para realizar uma simulação precisamos de um arquivo PDB da proteína de interesse

→ Triosefósfato Isomerase (código PDB: **7TIM**)

Editando o arquivo PDB no PyMOL

Orientar a molécula no centro:
A > orient



Selecionar apenas a proteína e extrair os átomos para um objeto:
...na seleção (sele) - “A > extract object”

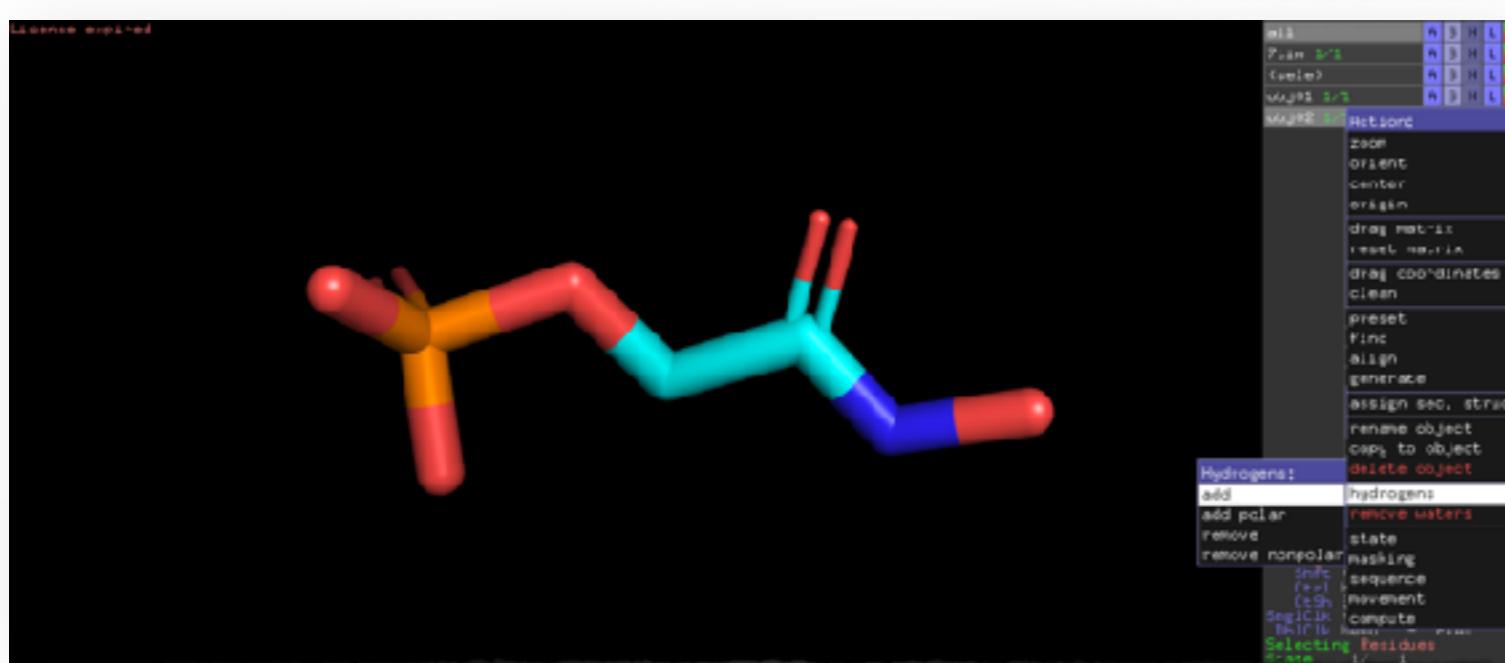
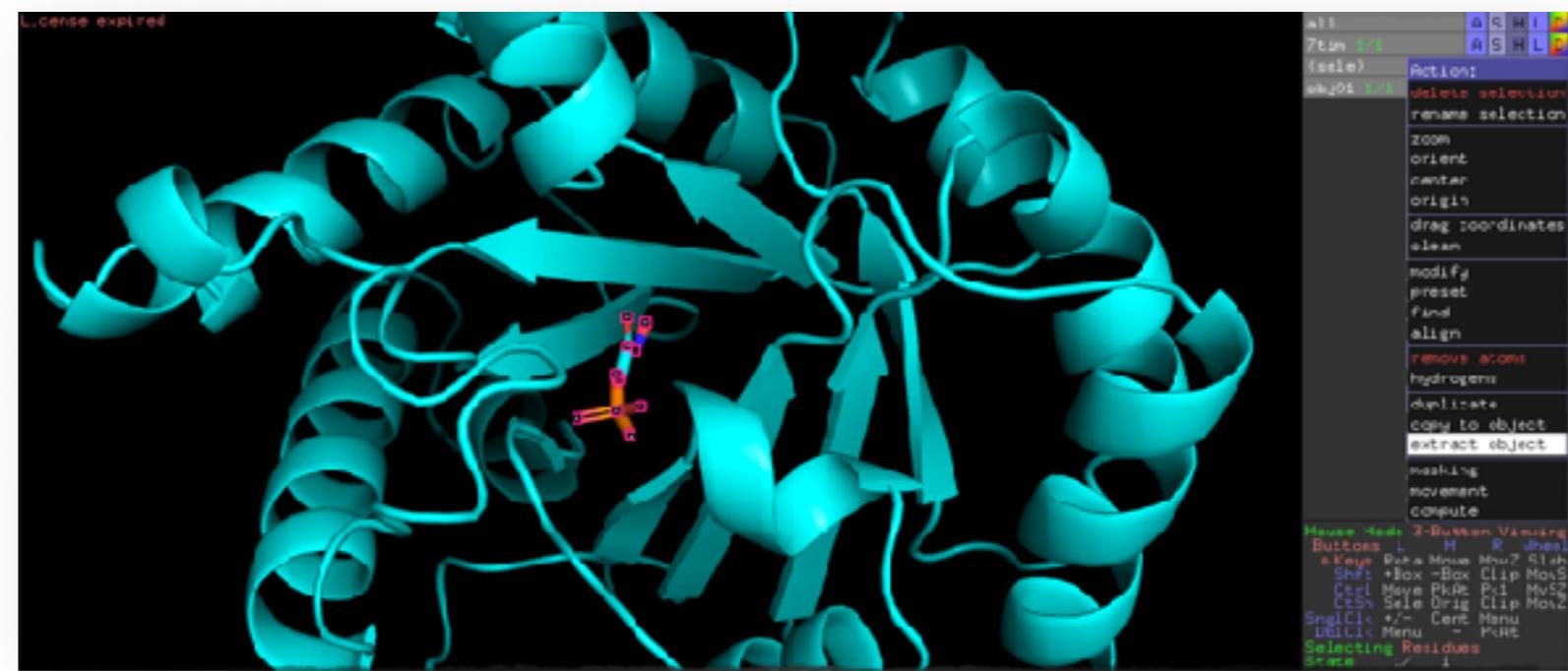
Preparação do sistema proteína-ligante

Para realizar uma simulação precisamos de um arquivo PDB da proteína de interesse

→ Triosefósforo Isomerase (código PDB: **7TIM**)

Editando o arquivo PDB no PyMOL

Selecionar apenas o ligante e extrair os átomos para um objeto:
...na seleção (sele) - “A > extract object”



Adicionar os hidrogênios no ligante:
A > hydrogens > add

Preparação do sistema proteína-ligante

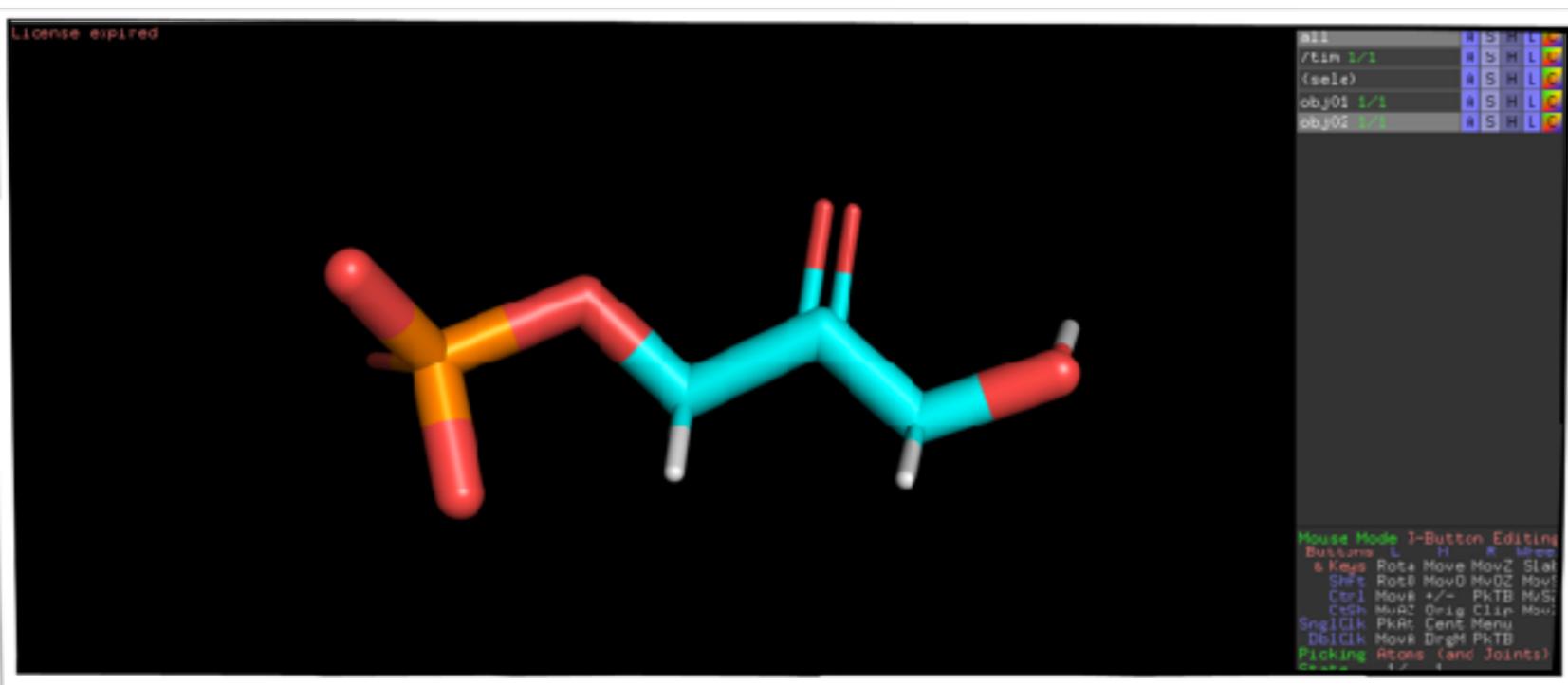
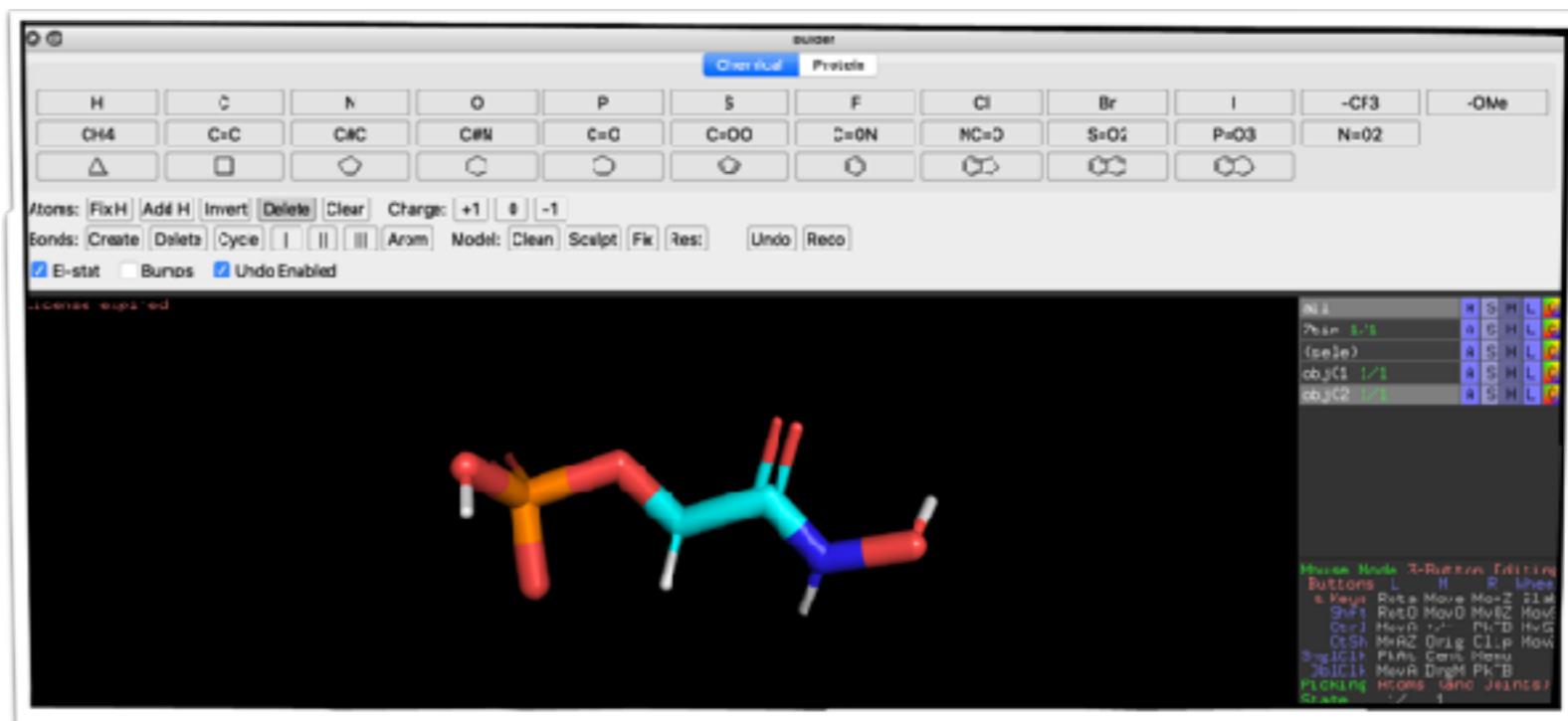
Para realizar uma simulação precisamos de um arquivo PDB da proteína de interesse

→ Triosefósfato Isomerase (código PDB: **7TIM**)

Editando o arquivo PDB no PyMOL

Acionar a função “builder” e deletar o “H” ligado ao oxigênio do grupo fosfato.

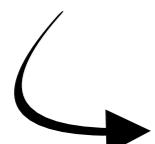
Alterar o átomo de “Nitrogênio” por “Carbono”



Salvar o ligante com a extensão “.mol2”

Preparação do sistema proteína-ligante

A primeira etapa para a DM é a preparação do arquivo PDB conforme os parâmetros do campo de força selecionado.



A partir do arquivo PDB serão gerados **três** arquivos:

- 1. Arquivo de topologia (.top)
- 2. Arquivo de restrição de posições (posre.itp)
- 3. Arquivo de estrutura processado (.gro)

Desta vez iremos optar por um arquivo de saída com extensão “.pdb”. Assim será mais fácil para as próximas etapas!

```
gmx pdb2gmx -f protein.pdb -o protein2.pdb -p protein.top -water tip3p
```

Input

Output

Preparação do sistema proteína-ligante

A primeira etapa após salvar os arquivos da proteína (.pdb) e do ligante (.mol2) no PyMOL é parametrizar o ligante de acordo com o campo de força que será utilizado na simulação

Nesta etapa iremos utilizar o programa **ACPYPE**

- Caso o link para o ACPYPE não esteja pronto, digite no terminal:

ln -s \$PWD/acpype.py /usr/local/bin/acpype



- Após as etapas anteriores, seguir com a parametrização do ligante:

\$ acpype -i ligand.mol2 -n -2

Preparação do sistema proteína-ligante

A primeira etapa após salvar os arquivos da proteína (.pdb) e do ligante (.mol2) no PyMOL é parametrizar o ligante de acordo com o campo de força que será utilizado na simulação

Nesta etapa iremos utilizar o programa **ACPYPE**

```
=====
| ACPYPE: AnteChamber PYthon Parser interfacE v. 2019-07-10T18:04:00UTC (c) 2019 AWSdS |
=====

==> ... charge set to -2
==> Executing Antechamber...
==> AC output file present... doing nothing
==> * Antechamber OK *
==> * Parmchk OK *
==> Topologies files already present... doing nothing
==> * Tleap OK *
==> Removing temporary files...
==> Writing NEW PDB file

==> Writing CNS/XPLOR files

==> Writing GROMACS files

==> Writing GMX dihedrals for GMX 4.5 and higher.

==> Writing CHARMM files

==> Pickle file ligand.pkl already present... doing nothing
Total time of execution: 1s
```

Preparação do sistema proteína-ligante

A primeira etapa após salvar os arquivos da proteína (.pdb) e do ligante (.mol2) no PyMOL é parametrizar o ligante de acordo com o campo de força que será utilizado na simulação

Nesta etapa iremos utilizar o programa **ACPYPE**

- O ACPYPE irá criar uma pasta (ex.: “ligand.acpype”) com diversos arquivos de parâmetros para os campos de força AMBER, CNS e OPLS-AA

```
# Adicionar o ligante gerado com o ACPYPE no arquivo ".pdb" da proteína:
```

```
grep -h ATOM Protein2.pdb Ligand.acpype/Ligand_NEW.pdb >| Complex.pdb
```

Este comando irá colocar o arquivo novo do ligante junto com o arquivo da proteína gerado com o módulo “pdb2gmx”

- Parte final do arquivo “complex.pdb”

ATOM	3775	ZHD2	ASN	B	248	38.450	31.879	49.565	1.00	0.00	C
ATOM	3776	C	ASN	B	248	38.307	28.868	45.077	1.00	0.00	O
ATOM	3777	OC1	ASN	B	248	38.660	25.884	45.045	1.00	0.00	O
ATOM	3778	OC2	ASN	B	248	37.718	28.727	44.160	1.00	0.00	O
ATOM	1	P	PGH	Z	1	54.043	41.877	55.729	1.00	0.00	P
ATOM	2	O1P	PGH	Z	1	55.348	42.237	54.795	1.00	0.00	O
ATOM	3	O2P	PGH	Z	1	54.733	41.344	56.995	1.00	0.00	O
ATOM	4	O3P	PGH	Z	1	53.348	40.921	54.953	1.00	0.00	O
ATOM	5	O4P	PGH	Z	1	53.352	43.194	56.005	1.00	0.00	O
ATOM	6	C01	PGH	Z	1	56.350	42.824	51.381	1.00	0.00	C
ATOM	7	C1	PGH	Z	1	56.324	42.574	52.595	1.00	0.00	C
ATOM	8	O1	PGH	Z	1	57.161	43.351	53.110	1.00	0.00	O
ATOM	9	CZ	PGH	Z	1	55.103	42.885	53.385	1.00	0.00	C
ATOM	10	O2	PGH	Z	1	57.403	42.259	50.452	1.00	0.00	O
ATOM	11	H01	PGH	Z	1	57.576	43.200	50.375	1.00	0.00	H
ATOM	12	H03	PGH	Z	1	54.921	41.834	53.159	1.00	0.00	H
ATOM	13	H02	PGH	Z	1	55.433	42.342	50.885	1.00	0.00	H
ATOM	14	H04	PGH	Z	1	56.498	40.970	51.619	1.00	0.00	H
ATOM	15	H05	PGH	Z	1	54.230	42.674	53.104	1.00	0.00	H

Preparação do sistema proteína-ligante

A primeira etapa após salvar os arquivos da proteína (.pdb) e do ligante (.mol2) no PyMOL é parametrizar o ligante de acordo com o campo de força que será utilizado na simulação

Nesta etapa iremos utilizar o programa **ACPYPE**

- Dentro da pasta que o ACPYPE criou precisamos mover o arquivo “ligand_GMX.itp” para a pasta que estamos montando o sistema

No arquivo “protein.top”, realizar duas alterações

- No final do arquivo:

```
[ molecules ]
; Compound          #mols
Protein_chain_B    1
PGH                1
```

```
; Include forcefield parameters
#include "amber99sb.ff/forcefield.itp"
#include "ligand_GMX.itp"
```

- No final do arquivo:

- Alterar:

```
[ moleculetype ]           nrexcl
;name                  3
ligand
```

- Para:

```
[ moleculetype ]           nrexcl
;name                  3
PGH
```



Preparação do sistema proteína-ligante

Após a parametrização do ligante, a preparação do sistema segue da mesma forma quando comparado com a simulação livre

→ (i) Definir as dimensões da caixa por meio do módulo “**editconf**”

- **c**: Centralizar a proteína no centro da caixa
- **d**: Distância da proteína até as arestas da caixa
- **bt**: Tipo de caixa que será utilizada

```
gmx editconf -f complex.pdb -o complex_box.gro -c -d 1.0 -bt cubic
```

Input

Output

Parâmetros

Preparação do sistema proteína-ligante

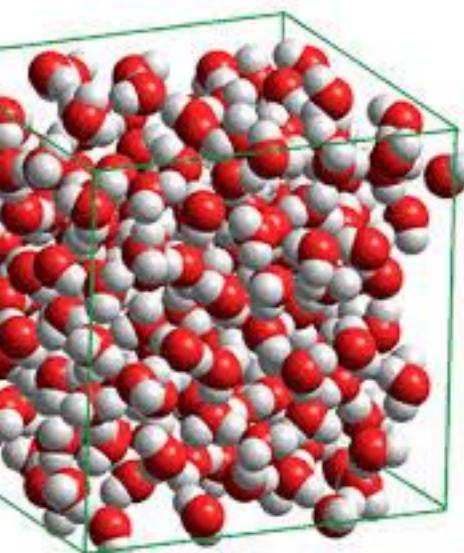
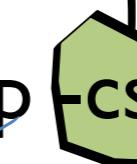
Após a parametrização do ligante, a preparação do sistema segue da mesma forma quando comparado com a simulação livre

- (ii) Preencher a caixa gerada com as moléculas por meio do módulo “**solute**”

- Configuração dos parâmetros de solvente

```
gmx solvate -cp complex_box.gro -p protein.top -cs -o complex_solv.gro
```

Input



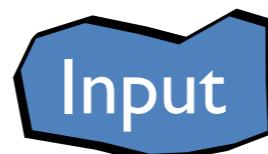
Output

Preparação do sistema proteína-ligante

Após a parametrização do ligante, a preparação do sistema segue da mesma forma quando comparado com a simulação livre

→ Adicionar os ions com o intuito de neutralizar as cargas do sistema de estudo

```
gmx grompp -f ionsmdp -c complex_solv.gro -p protein.top -o ions.tpr
```



```
NOTE 2 [file protein_2.top, line 35614]:  
System has non-zero total charge: -5.000002  
Total charge should normally be an integer. See  
http://www.gromacs.org/Documentation/Floating\_Point\_Arithmetic  
for discussion on how close it should be to an integer.
```

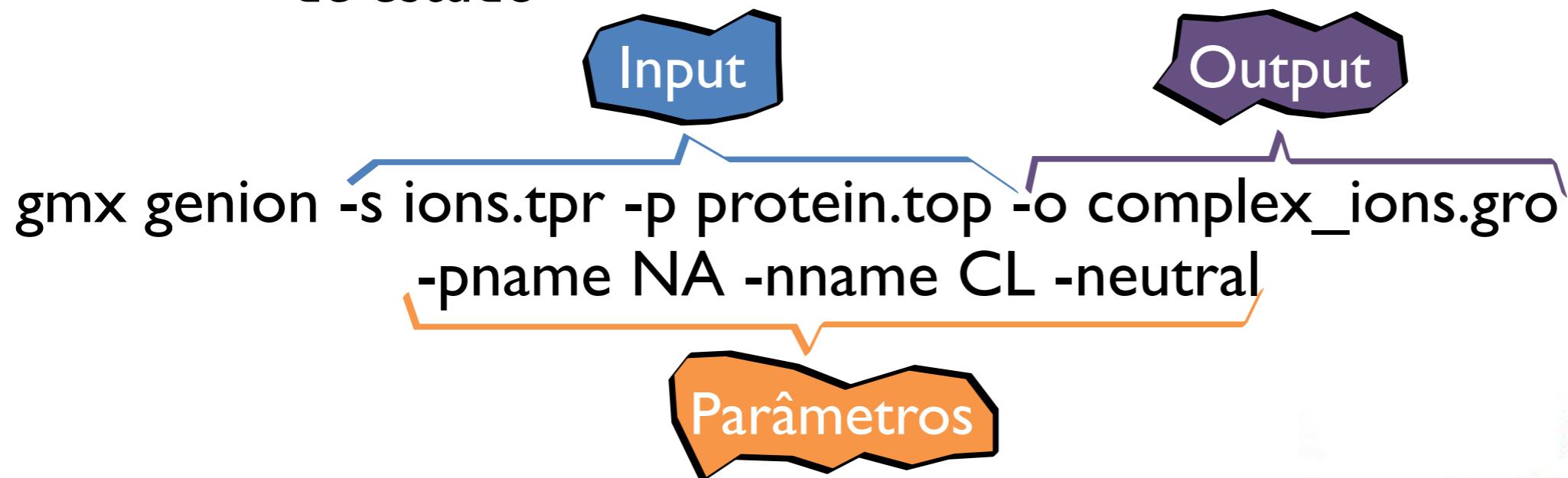
Descreve a carga do sistema, informando quantos íons deverão ser adicionados

Preparação do sistema proteína-ligante

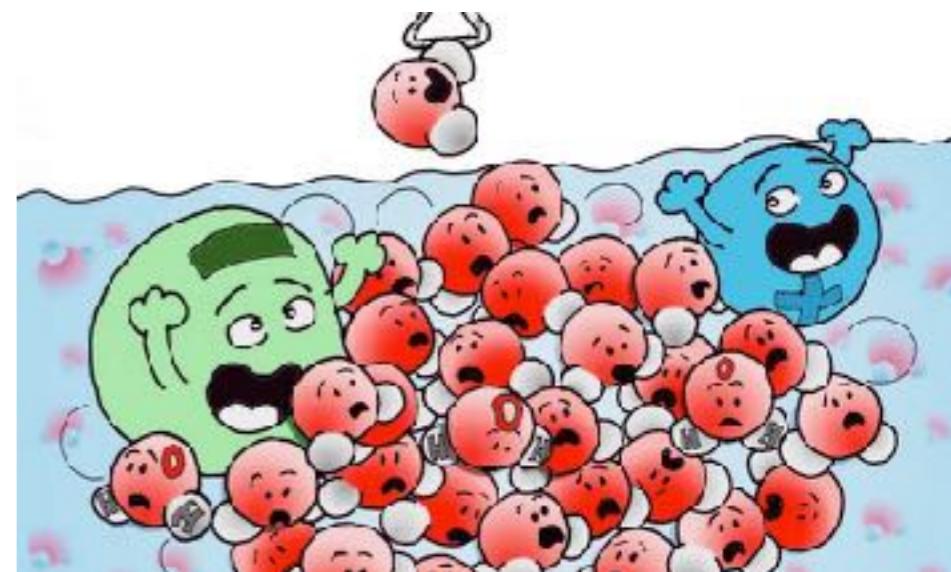
Após a parametrização do ligante, a preparação do sistema segue da mesma forma quando comparado com a simulação livre



Adicionar os ions com o intuito de neutralizar as cargas do sistema de estudo



Determina que serão adicionados o número exato de íons para neutralizar o sistema. Existe a possibilidade de adicionar os íons de acordo com uma concentração específica, i.e. “**-conc 0.15 -neutral**”



Preparação do sistema proteína-ligante

Após a parametrização do ligante, a preparação do sistema segue da mesma forma quando comparado com a simulação livre

→ Adicionar os íons com o intuito de neutralizar as cargas do sistema de estudo

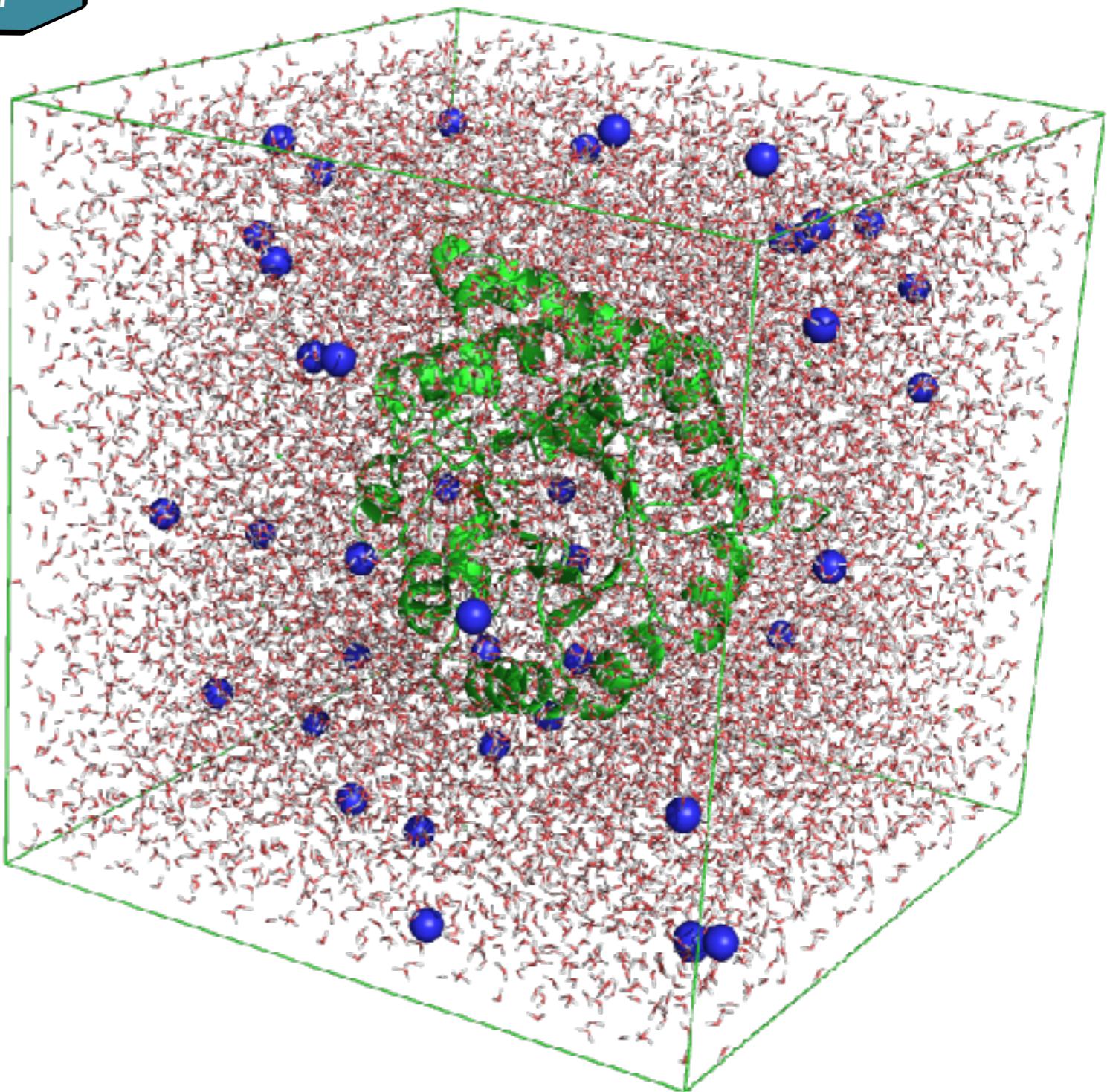
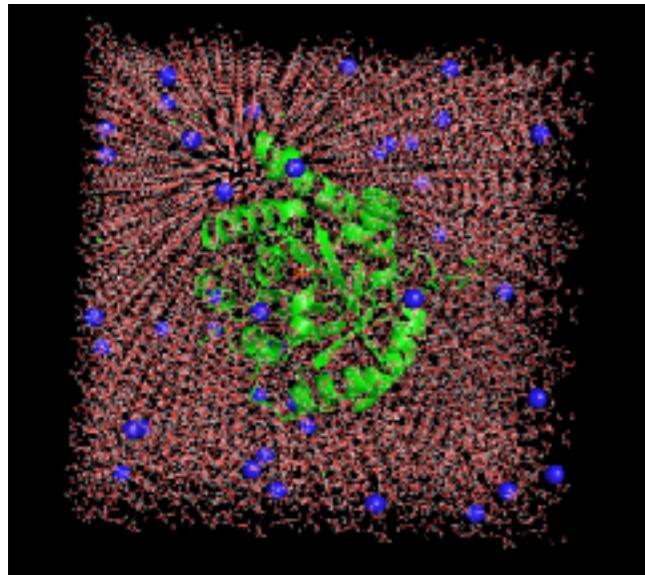
```
Reading file ions.tpr, VERSION 2018.1 (single precision)
Reading file ions.tpr, VERSION 2018.1 (single precision)
Will try to add 5 NA ions and 0 CL ions.
Select a continuous group of solvent molecules
Group    0 (      System) has 38578 elements
Group    1 (      Protein) has  3778 elements
Group    2 (  Protein-H) has  1883 elements
Group    3 (     C-alpha) has   247 elements
Group    4 (    Backbone) has   741 elements
Group    5 ( MainChain) has   989 elements
Group    6 ( MainChain+Cb) has 1214 elements
Group    7 ( MainChain+H) has 1231 elements
Group    8 ( SideChain) has 2547 elements
Group    9 ( SideChain-H) has  894 elements
Group   10 ( Prot-Masses) has 3778 elements
Group   11 ( non-Protein) has 34800 elements
Group   12 (      Other) has    15 elements
Group   13 (        PGH) has    15 elements
Group   14 (      Water) has 34785 elements
Group   15 (       SOL) has 34785 elements
Group   16 ( non-Water) has  3793 elements
Select a group: 15
```

Selecionar o grupo que esteja o sólvente! Serão trocadas moléculas de água por íons!!!

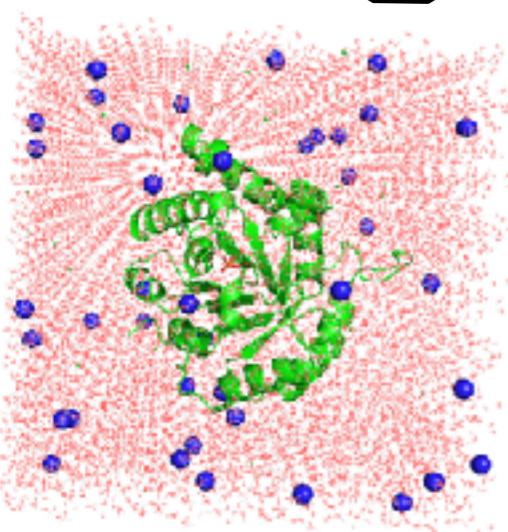
Preparação do sistema proteína-ligante

Visualização do sistema no ***PyMOL***

...digitar no terminal: **pymol protein_ions.pdb**



>bg_color white



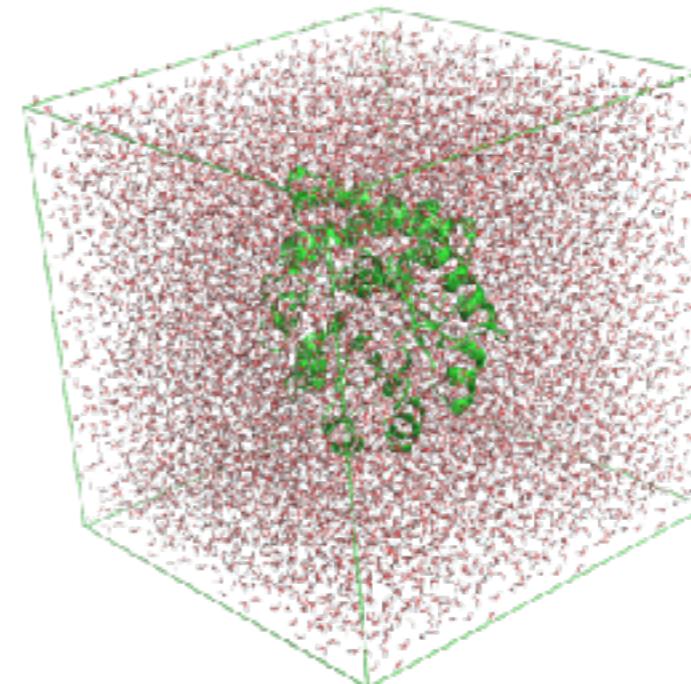
Preparação do sistema proteína-ligante

Após a parametrização do ligante, a preparação do sistema segue da mesma forma quando comparado com a simulação livre

→ Adicionar os íons com o intuito de neutralizar as cargas do sistema de estudo

...conferindo o arquivo de simulação...

Converte o arquivo “.gro” em
“.pdb” para a visualização
no PyMOL



gmx editconf -f complex_ions.gro -o complex_ions.pdb

Input

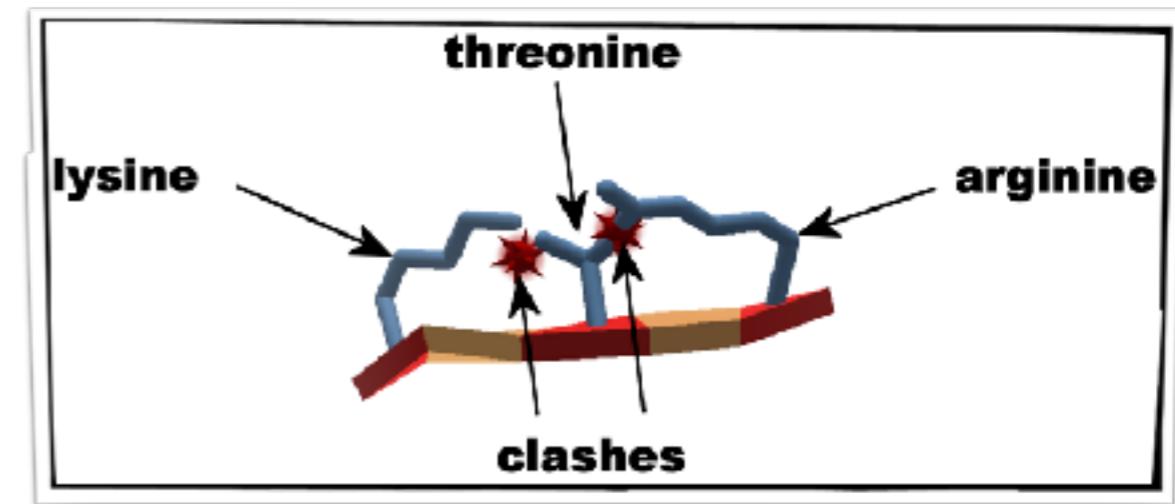
Output

Preparação do sistema proteína-ligante

Após a parametrização do ligante, a preparação do sistema segue da mesma forma quando comparado com a simulação livre

→ Minimização do sistema para evitar geometrias incorretas, assim como, choques entre cadeias laterais do resíduos

Etapa de pré-
processamento



gmx grompp -f minim.mdp -c complex_ions.gro -p protein.top -o em.tpr

Input

Output

This run will generate roughly 3 Mb of data



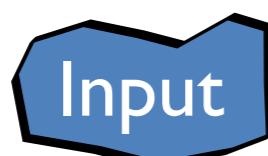
Fornece uma estimativa de espaço!

Preparação do sistema proteína-ligante

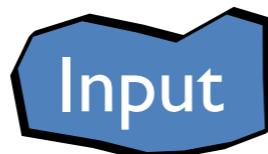
Os passos seguintes são...

...opção para impacientes!

```
gmx mdrun -deffnm em -v
```



```
gmx grompp -f nvtmdp -c em.gro -r em.gro -p protein.top -o nvt.tpr
```



...opção para impacientes!

```
gmx mdrun -deffnm nvt -v
```



```
gmx grompp -f nptmdp -c nvt.gro -r nvt.gro -t nvt.cpt -p protein.top -o npt.tpr
```

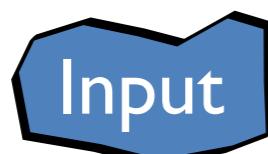


Preparação do sistema proteína-ligante

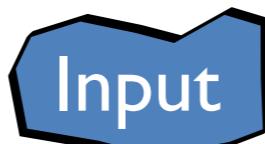
Os passos seguintes são...

...opção para impacientes!

```
gmx mdrun -deffnm npt -v
```

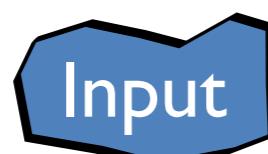


```
gmx grompp -f md.mdp -c npt.gro -r npt.gro -t npt cpt -p protein.top -o md.tpr
```



...opção para impacientes!

```
gmx mdrun -deffnm md -v
```



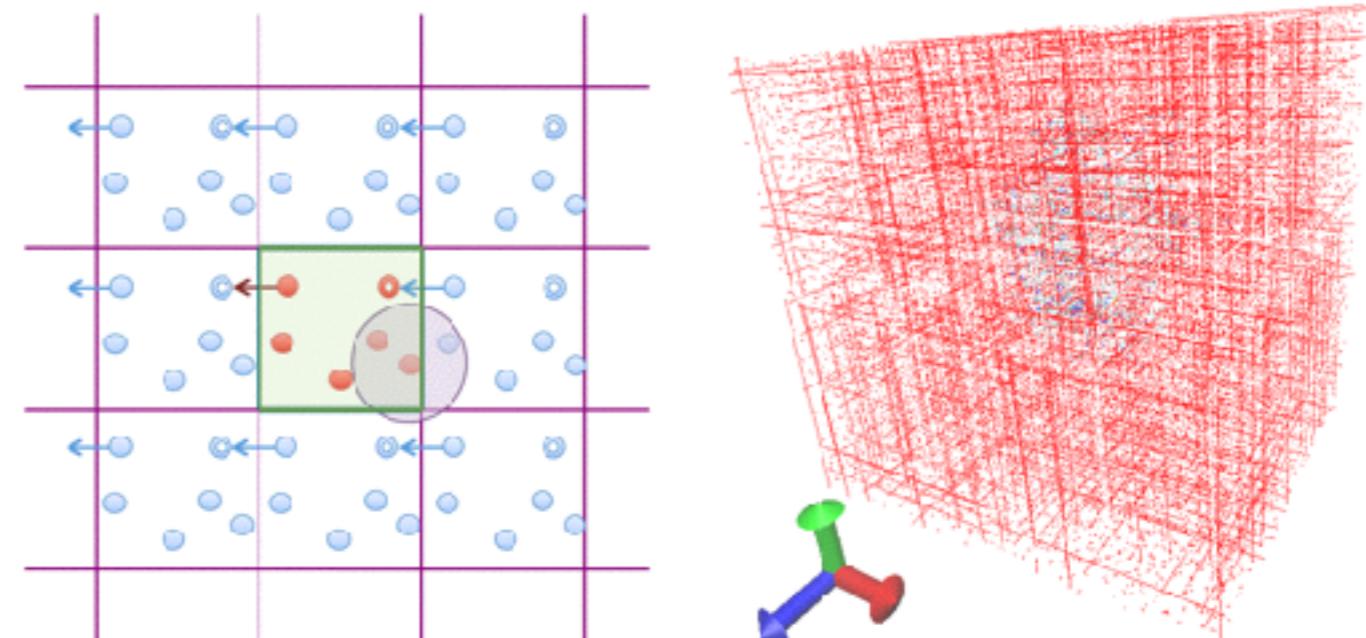
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação

Condições periódicas de contorno (PBC)

A partir deste ponto iremos centralizar todos os frames da proteína no centro da caixa do sistema



```
gmx trjconv -s md.tpr -f md.xtc -pbc mol -center -o md_noPBC.xtc
```

Input

Parâmetros

Output

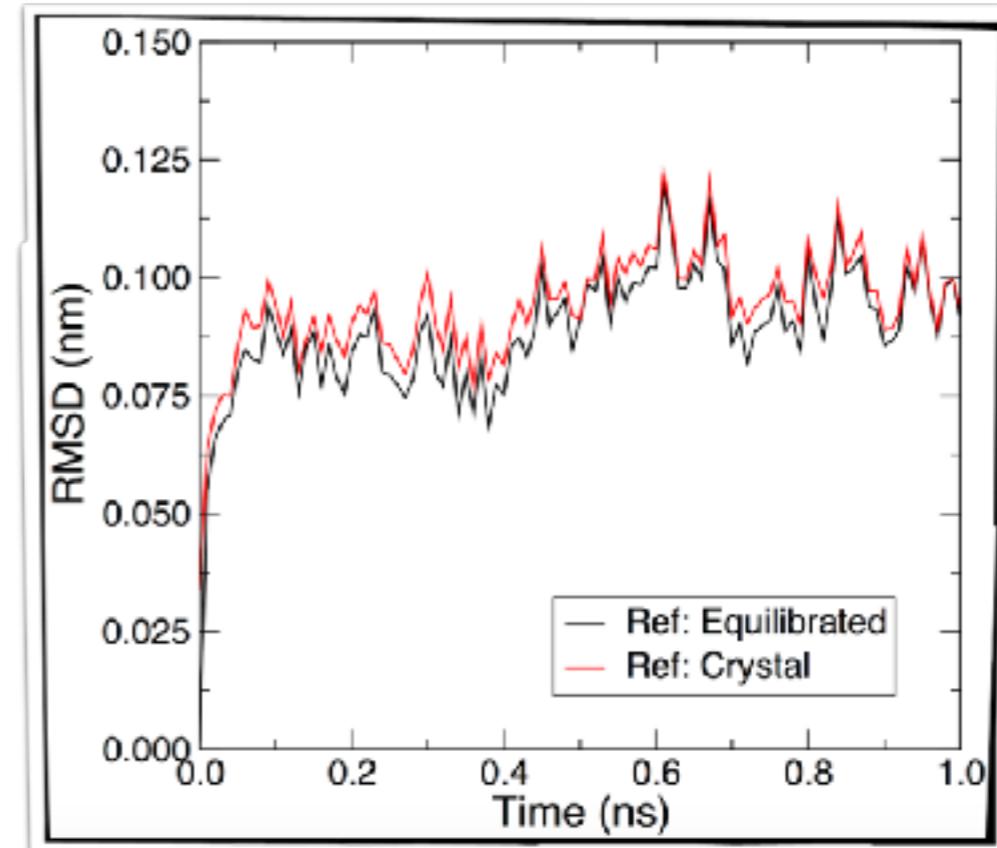
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação

Desvio médio quadrático (RMSD)

Descreve a variação da estrutura da proteína ao longo da simulação em relação a estrutura inicial



```
gmx rms -s md.tpr -f md_noPBC.xtc -o rmsd.xvg -tu ns
```

Input

Output

Parâmetros

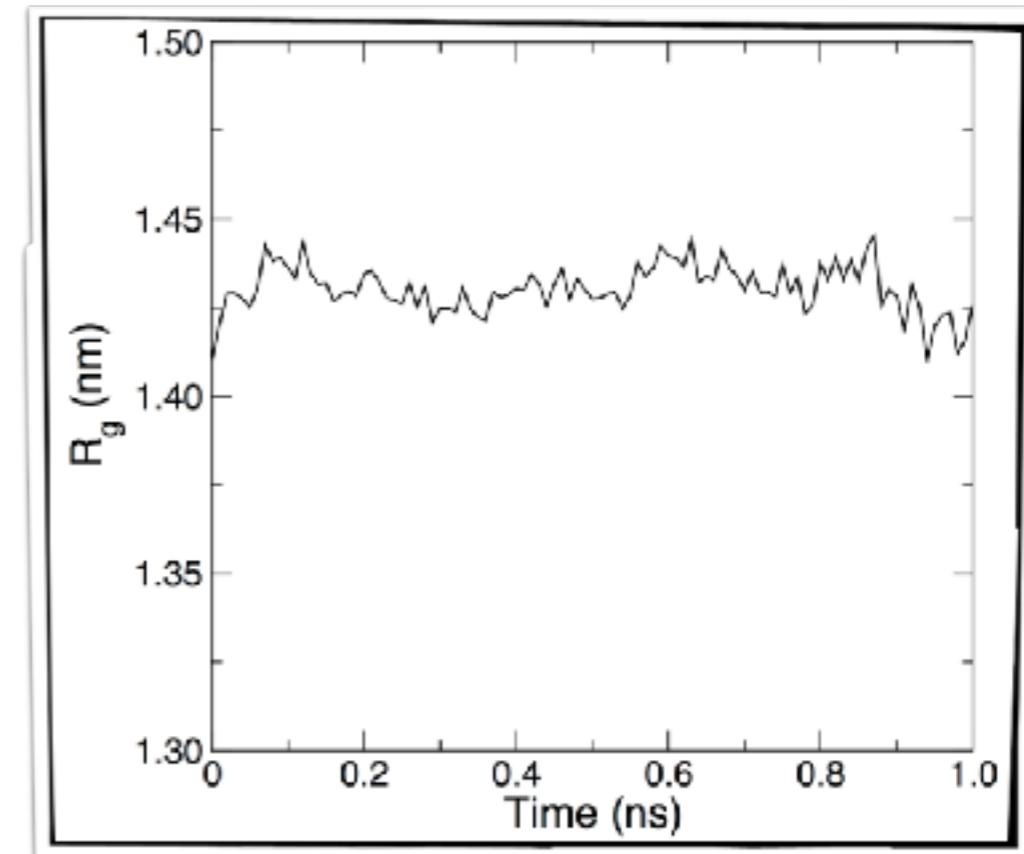
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação

Raio de giração (RG)

Descreve a compactação da estrutura proteína de estudo ao longo da simulação



gmx gyrate -s md.tpr -f md_noPBC.xtc -o gyrate.xvg

Input

Output

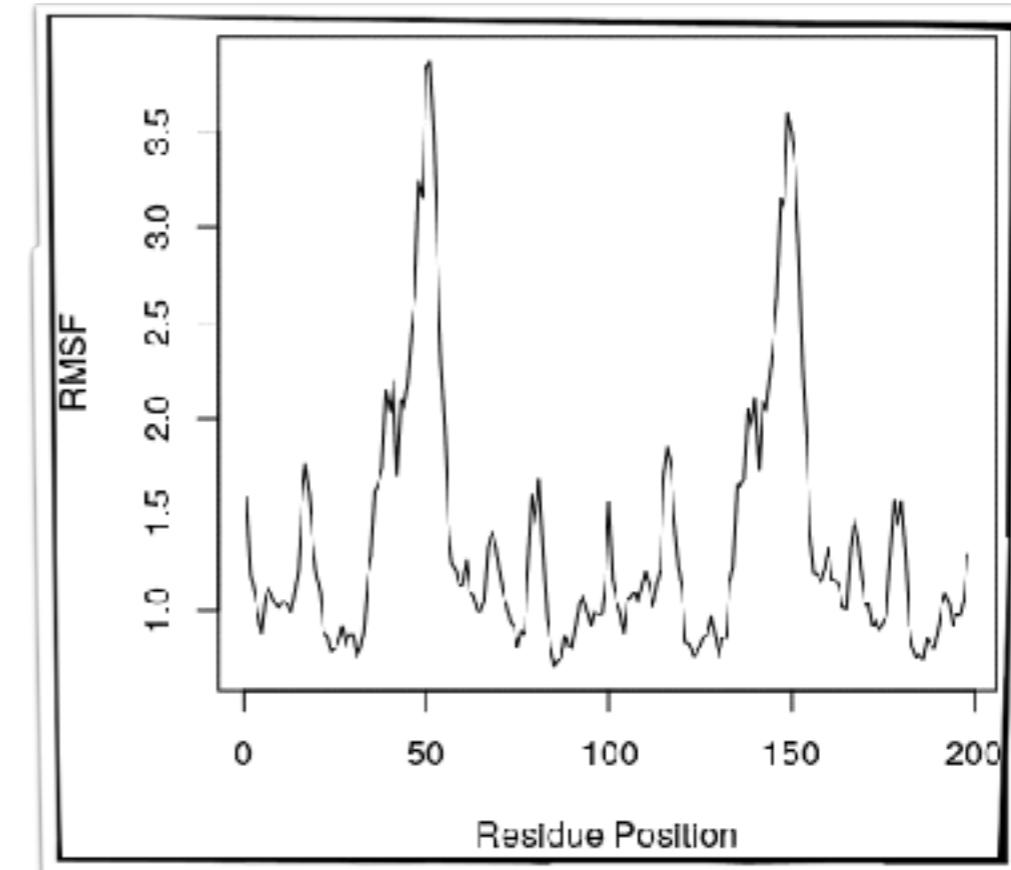
Preparação do sistema

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação

Flutuação média quadrática (RMSF)

Descreve a flutuação de cada resíduo durante a simulação, fornece um indício sobre a flexibilidade de regiões na proteína



gmx rmsf -s md.tpr -f md_noPBC.xtc -o rmsf

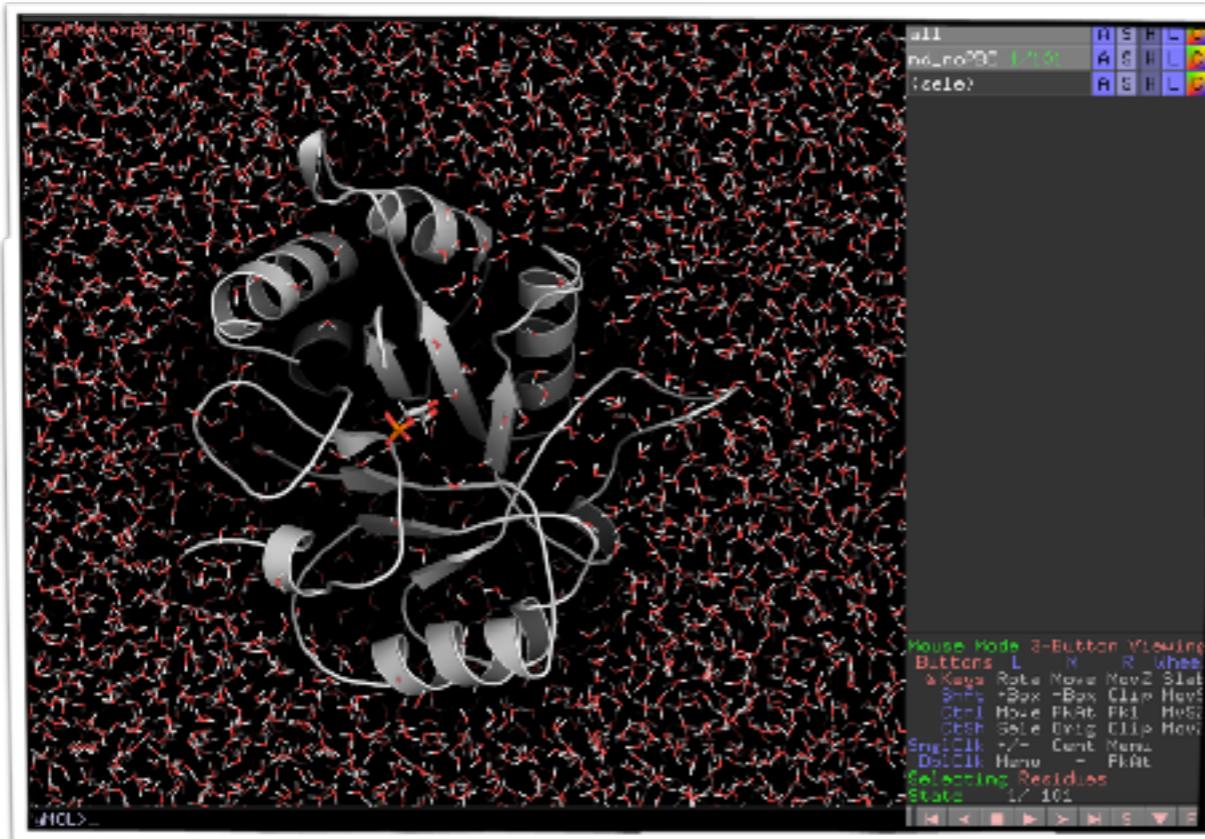
Input

Output

Preparação do sistema proteína-ligante

Os próximos passos na preparação de um sistema proteico para a simulação por DM

→ Após a simulação, podemos iniciar as etapas de análises da simulação



Abrir o arquivo “md_noPBC.pdb” no PyMOL para visualizar a trajetória

gmx trjconv -s md.tpr -f md.xtc -pbc mol -center -o md_noPBC.pdb

Input

Parâmetros

Output

Preparação do sistema proteína-ligante

Como converter arquivos de topologia e coordenadas do GROMACS para o AMBER?



Uma alternativa é utilizar o programa [ParmEd](#)

```
import parmed as pmd

# convert GROMACS topology to AMBER format
gmx_top = pmd.load_file('pmaawaterFE20mer2.top', xyz='pmaawaterFE20mer2.gro')
gmx_top.save('pmaa.top', format='amber')
gmx_top.save('pmaa.crd', format='rst7')
```

Abrir um editor de texto e digitar esse script

Na linha “gmx_top”, alterar o nome dos arquivos de entrada “.top” e “.gro”

Na linha “gmx_top.save”, alterar o nome dos arquivos de saída “.top” e “.crd”

Serão estes arquivos que utilizaremos para as simulação com potenciais híbridos (QM/MM)

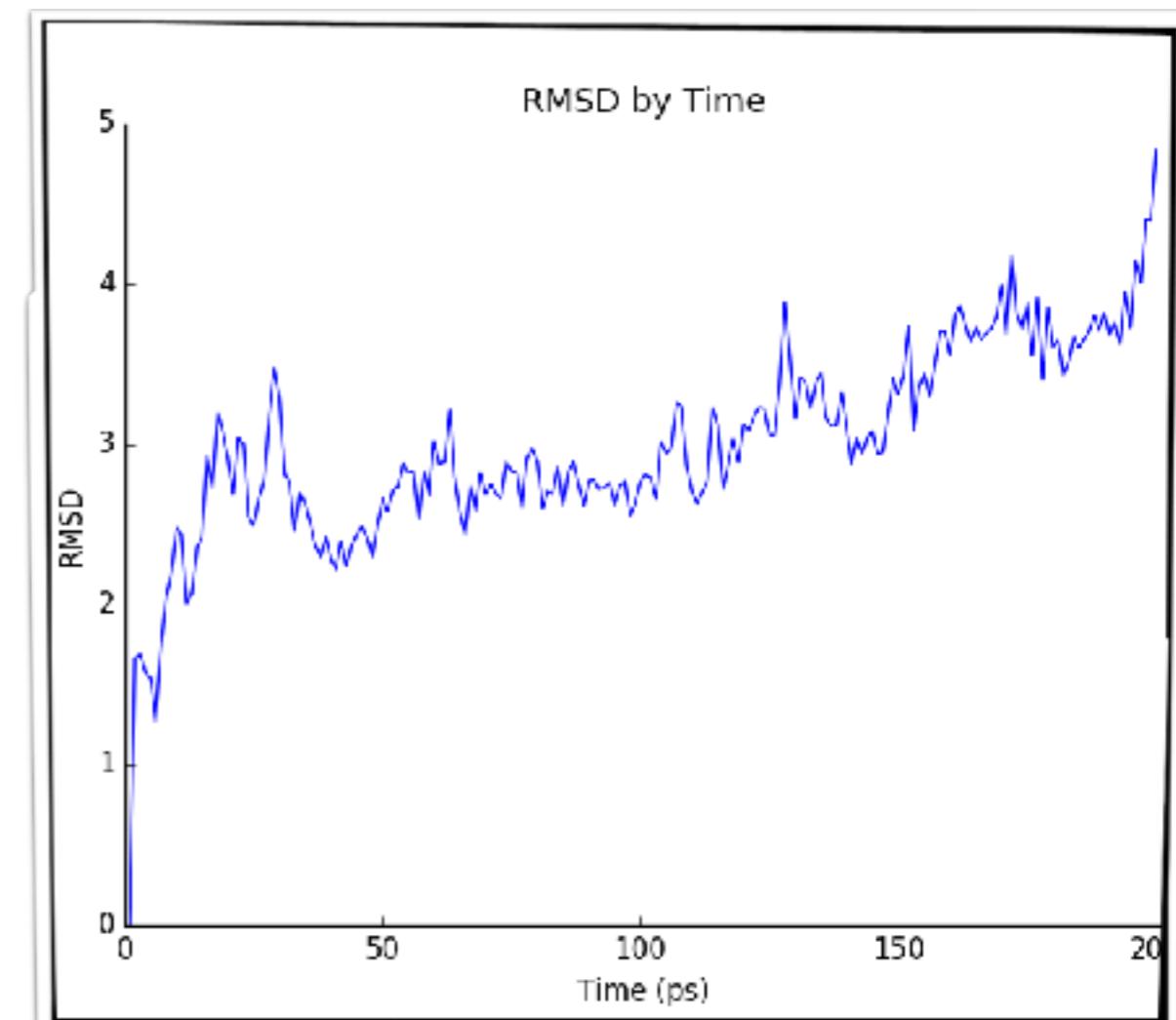
Análises utilizando o Gambiarra Package

Fazer o download do arquivo “teste2.tar.gz” pelo github:

https://github.com/luisfernandosaraiva/Tutorial_EGB2019

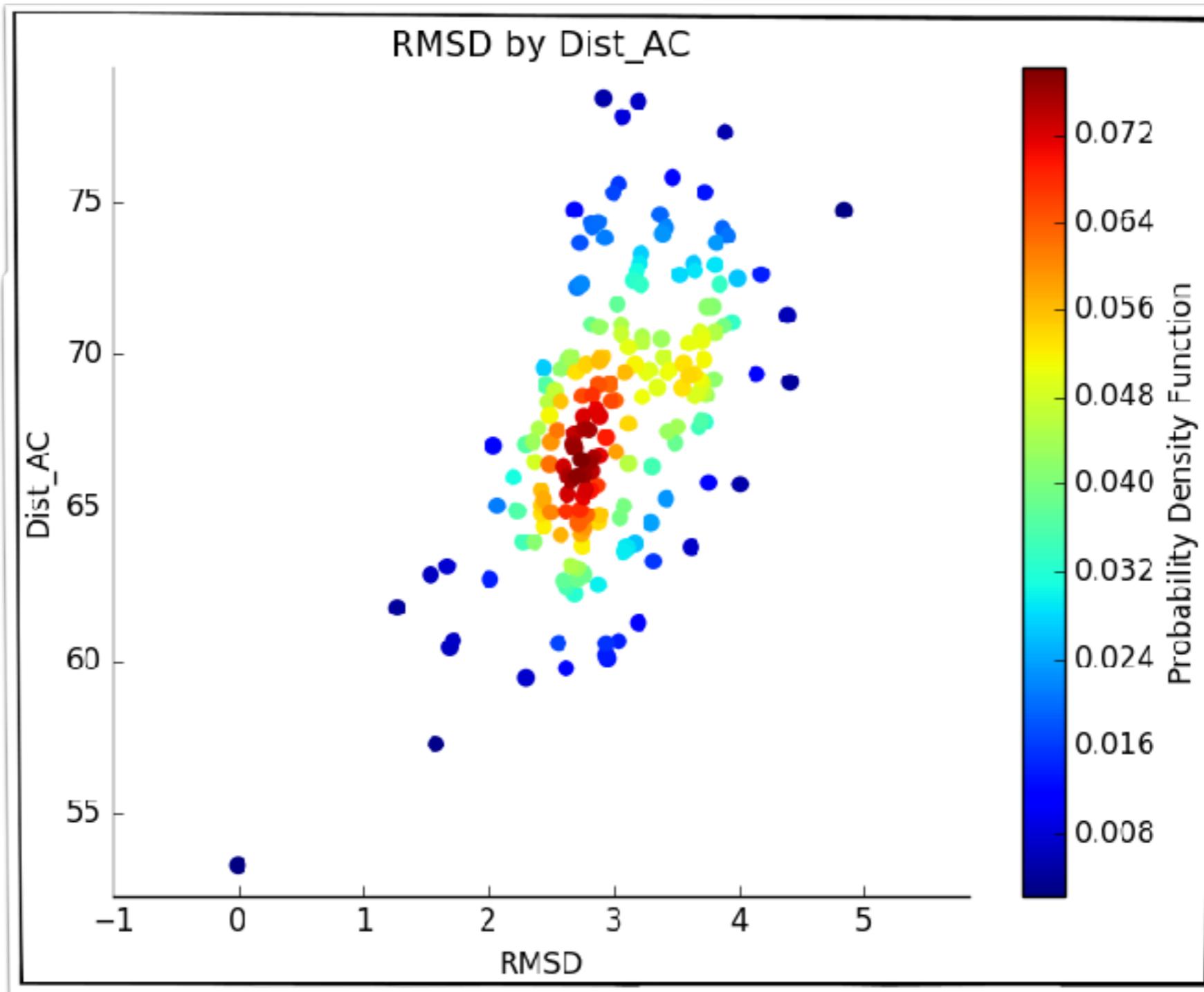
```
python geometric_measures.py -m teste2.pdb -t all -c A -rA 1,119,226 -rD 1,119,226,34 -tA 1,119,226 -o all
```

```
python plot_geometric_measures.py -p all.tbl -t RMSD
```



Análises utilizando o Gambiarra Package

python plot_geometric_measures.py -p all.tbl -t RMSD,Dist_AC



Simulação por meio de *dinâmica molecular* *híbrida (QC/MM)*

Simulação por métodos híbridos

- ✓ O que são os **métodos híbridos**?
 - Por definição, **método híbrido**, é aquele que combina **diferentes potenciais** para o tratamento de um sistema.
 - Nosso interesse é a **combinação** de métodos **clássicos** (MM) e **quânticos** (QC). Essa abordagem é conhecida como **QC/MM** ou **QM/MM**.
 - Esta abordagem é antiga, utilizada pela primeira vez ainda nos anos 70! - *Mecanismo da lisozima*
 - A. Warshel, M. Levitt M. J. Mol. Biol. 1976, 103(2), 227-249.

Simulação por métodos híbridos



Illustration: ©Johan Jarnestad/The Royal Swedish Academy of Sciences



Illustration: ©Johan Jarnestad/The Royal Swedish Academy of Sciences

Simulação por métodos híbridos

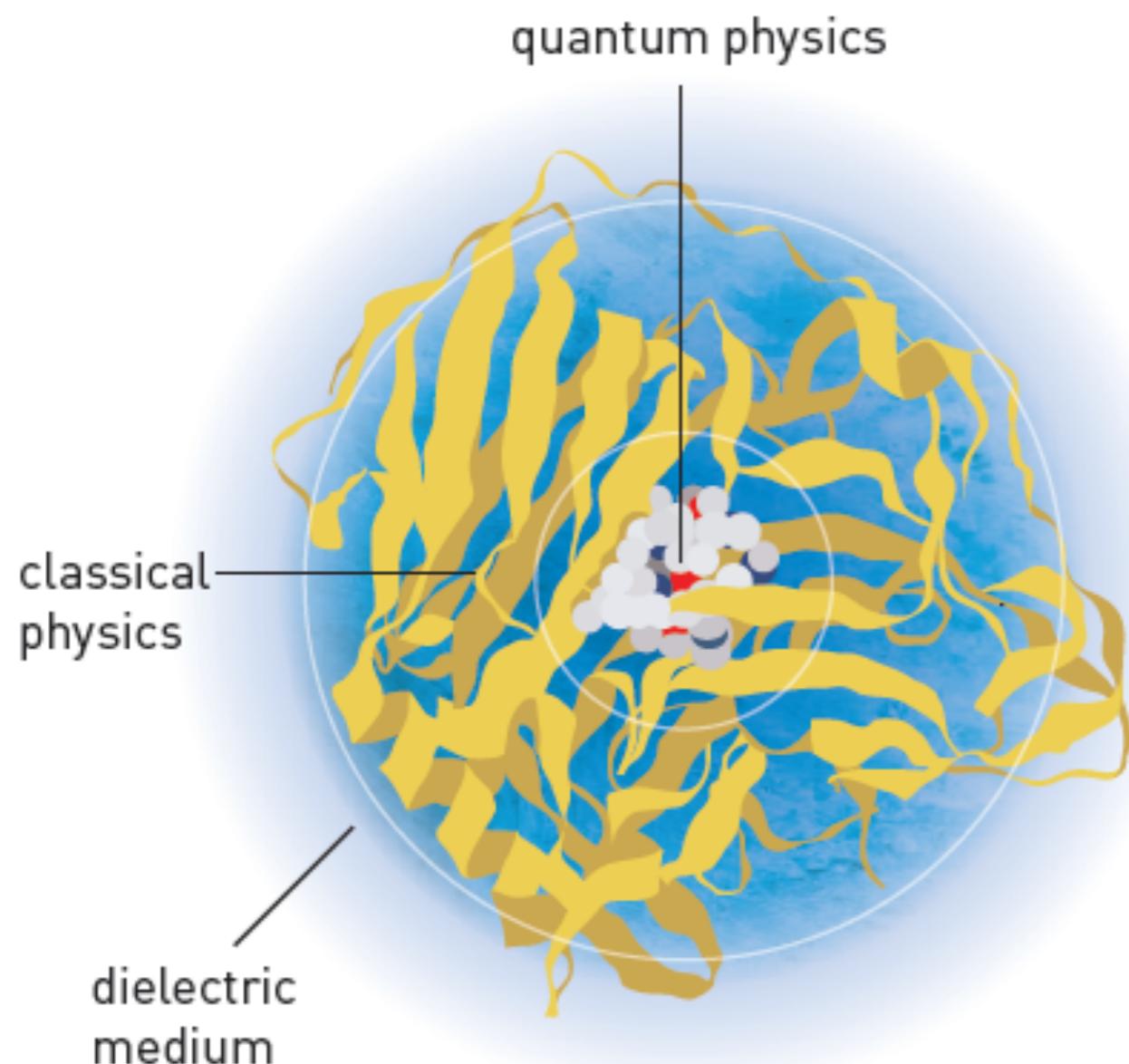
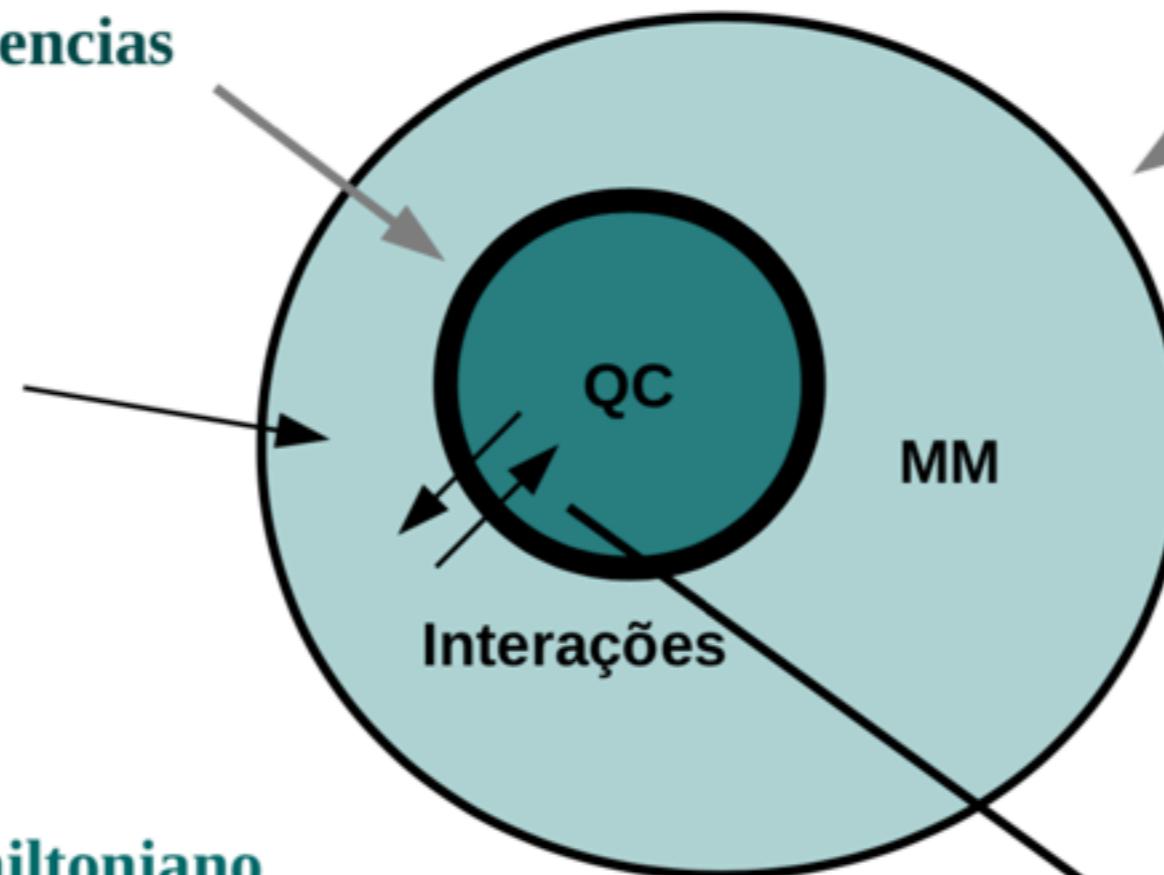


Illustration: ©Johan Jarnestad/The Royal Swedish Academy of Sciences

Simulação por métodos híbridos

A região de interesse é descrita por **potencias quânticos**.

As duas regiões interagem.



Sistema contendo muitos átomos, descritos por potenciais **puramente clássicos**.

Como fica o hamiltoniano efetivo do sistema?

$$(\hat{H})_{eff} = (\hat{H})_{QC} + (\hat{H})_{MM} + (\hat{H})_{QC/MM}$$

“Puro” QC

“Puro” MM

Híbrido

Simulação por métodos híbridos

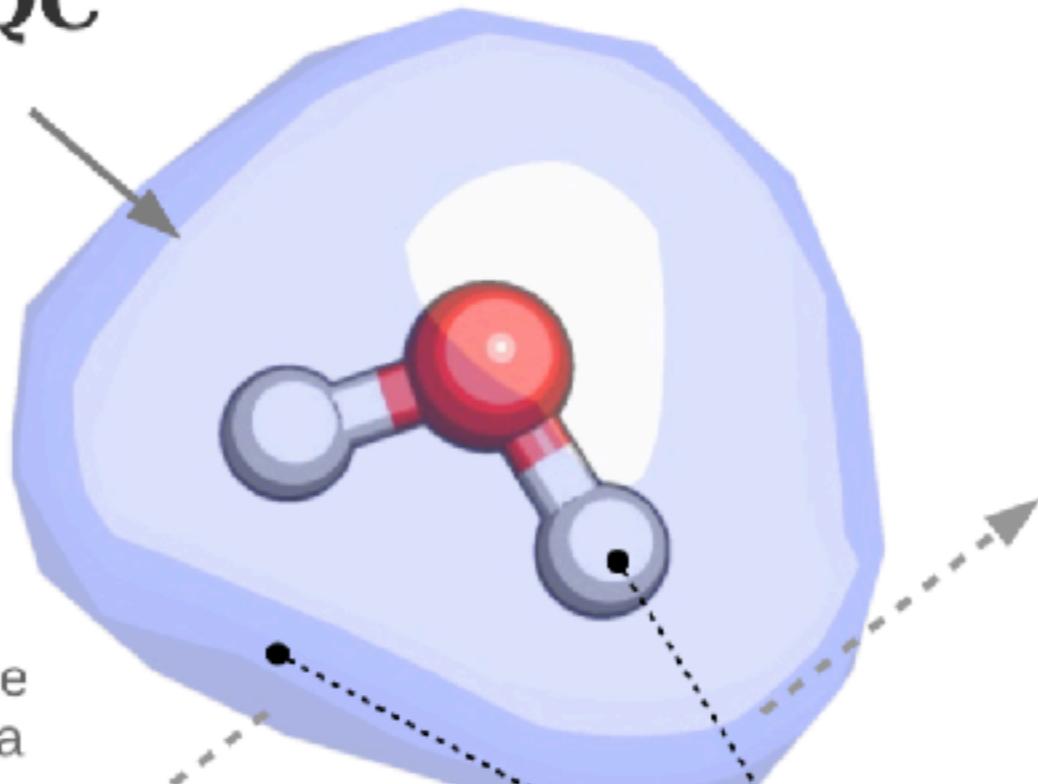


Região QC

Densidade eletrônica

“Elétron” – Núcleo (MM)

$$-\sum_{sm} \frac{q_m}{r_{sm}}$$



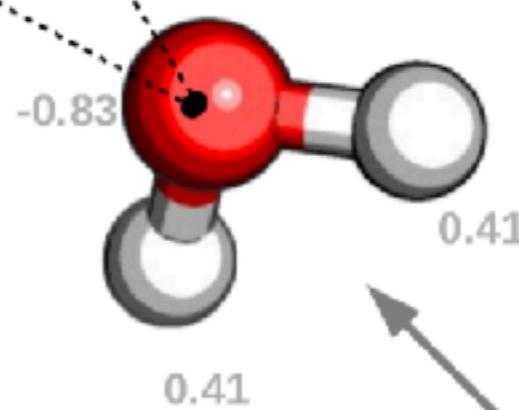
Núcleo (QC) – Núcleo (MM)

$$+ \sum_{im} \frac{Z_i q_m}{r_{im}}$$

Leonard – Jones (VdW)

$$+ \sum_{im} \left(\frac{A_{im}}{r_{im}^{12}} - \frac{B_{im}}{r_{im}^6} \right)$$

Não permite que as regiões QC e MM colidam

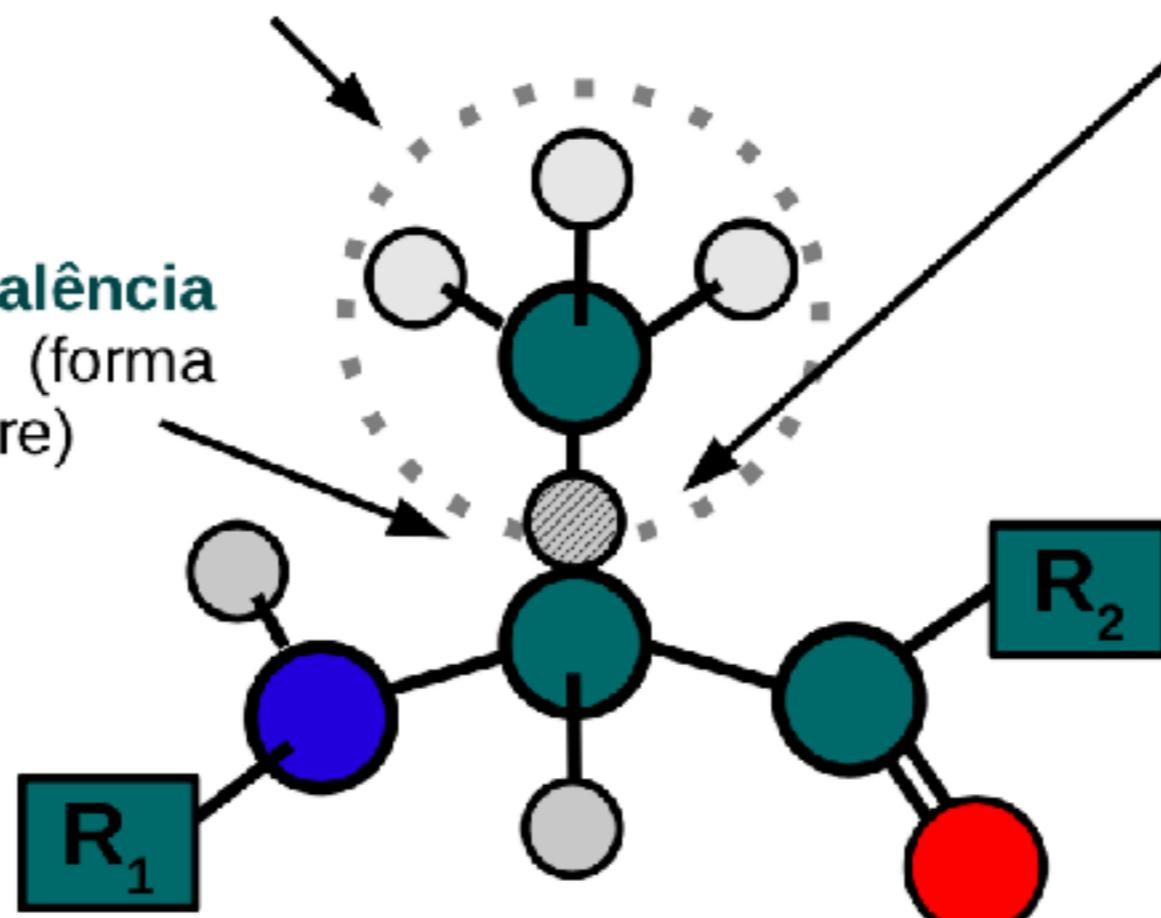


Região MM - cargas parciais

Simulação por métodos híbridos

Ex. Região QC inclui somente a cadeia lateral.

Resta uma valência incompleta (forma um radical livre)



Alanina

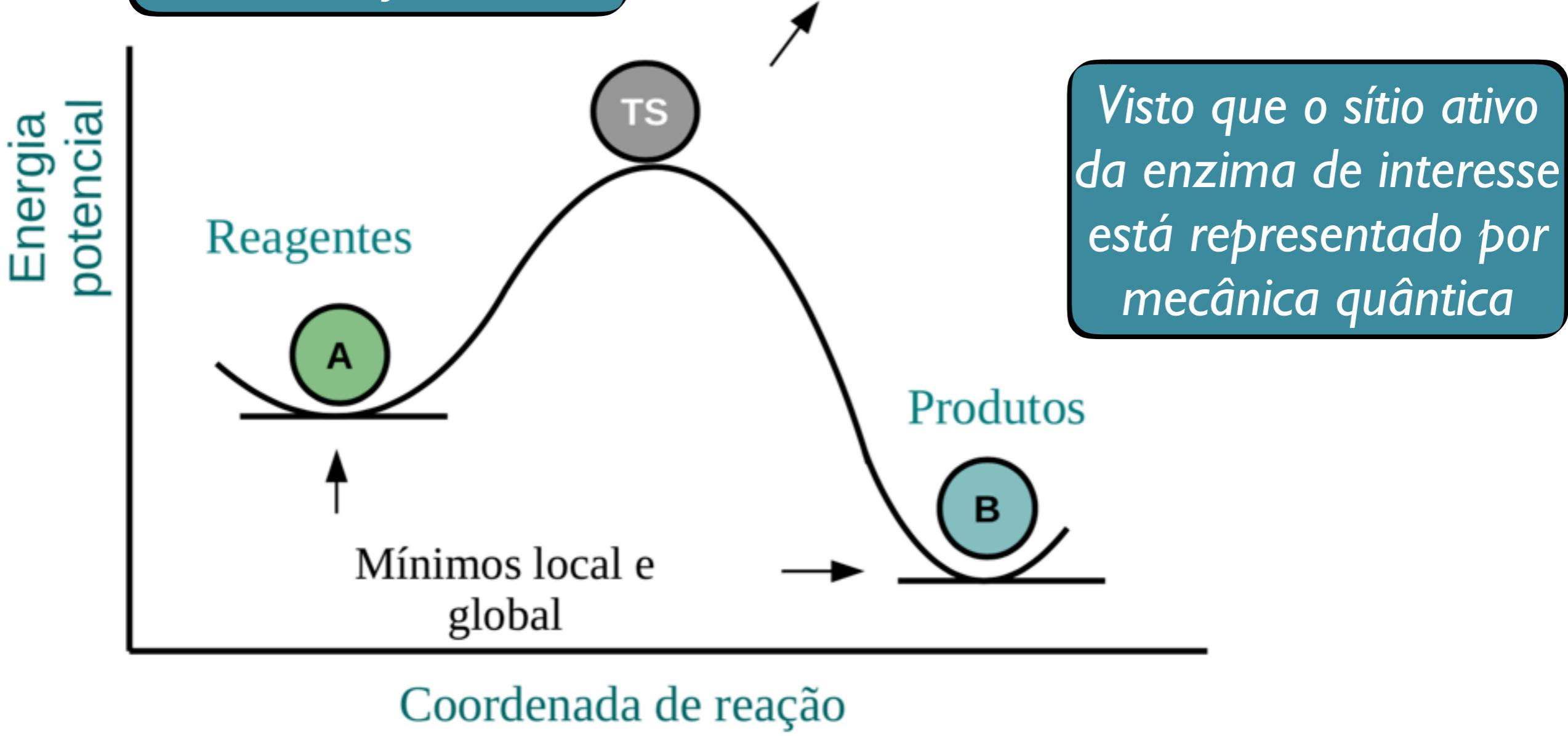
Adicionar um átomo monovalente na fronteira
Ex: H, F, Cl ou Br

Este átomo é fixo na ligação de fronteira – não pode ser “alterado”.

A região de fronteira deve ficar o mais distante possível da região de interesse.

Simulação por métodos híbridos

A aplicação desta metodologia permite amostrar caminhos de reação

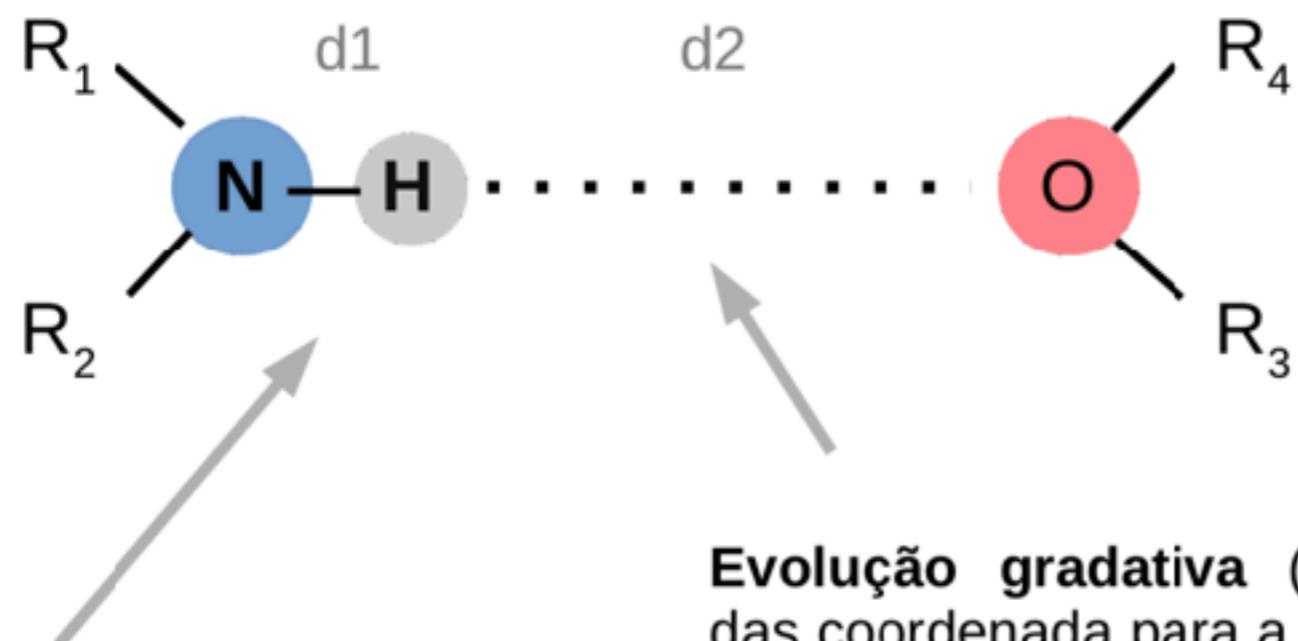


Simulação por métodos híbridos

A primeira etapa na determinação de caminhos de reação é a determinação da coordenada de reação

Varredura da coordenada de reação.

- Exemplo: Transferência do próton.



Uma vez delimitada a coordenada, podemos aplicar a abordagem de “scan” para obter uma estimativa sobre a energia de ativação para a conversão de reagentes para produtos

Evolução gradativa (e atemporal) das coordenada para a formação dos produtos.

Cada passo é seguido de uma **otimização de geometria** (restrições harmônicas são mantidas)

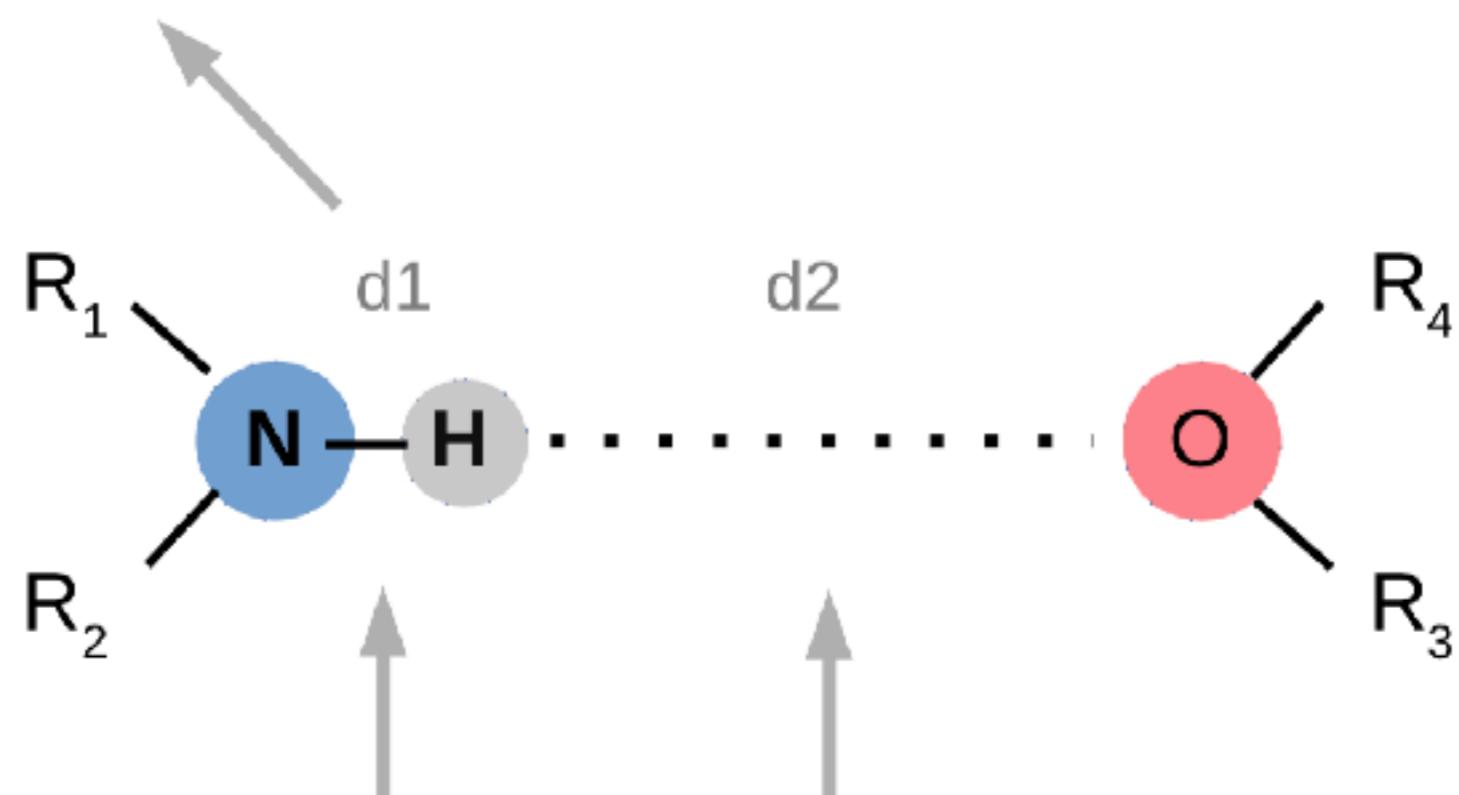
Atribui-se um potencial harmônico de restrição (kx^2)

Simulação por métodos híbridos

A primeira etapa na determinação de caminhos de reação é a determinação da coordenada de reação

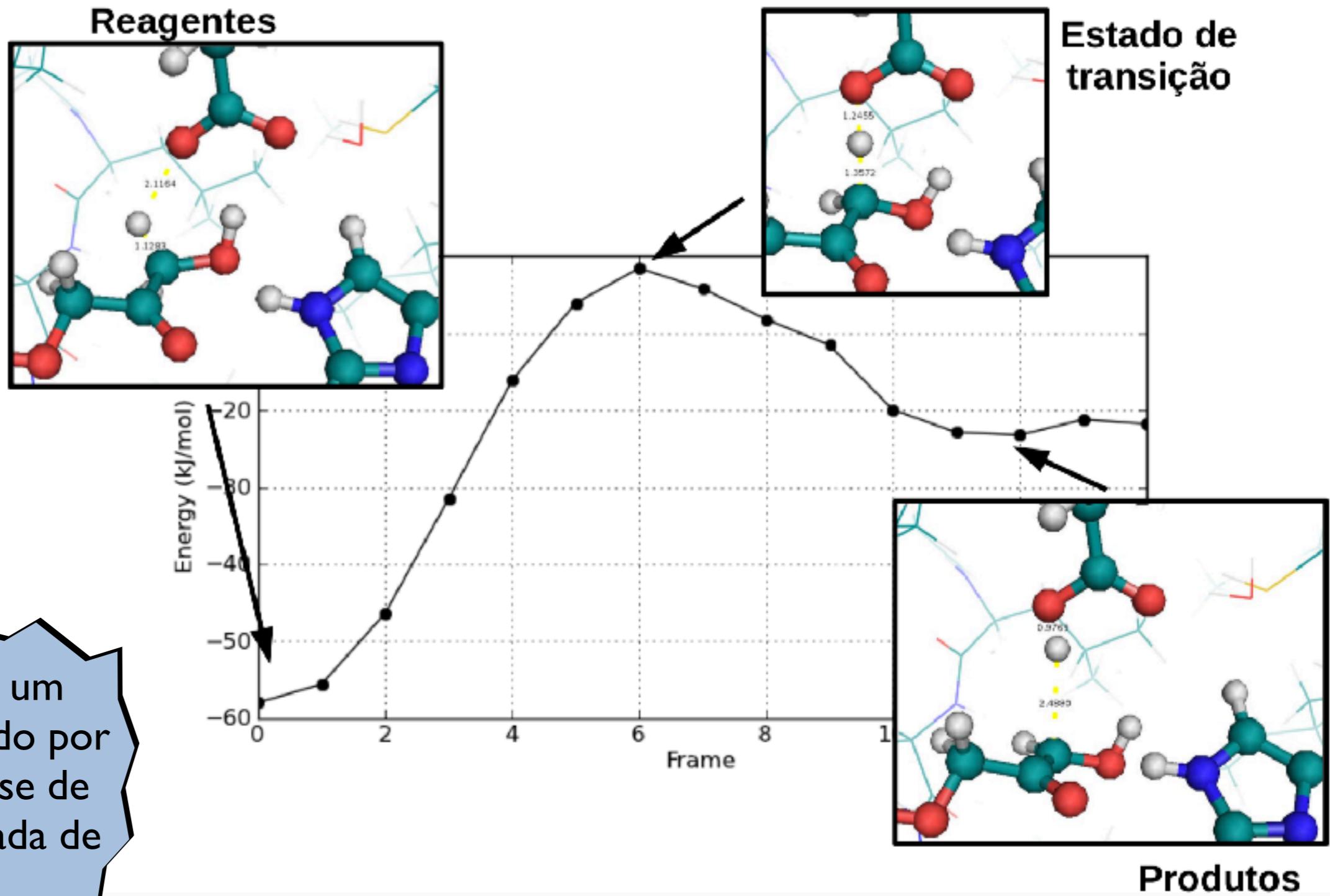
Tipos de restrições

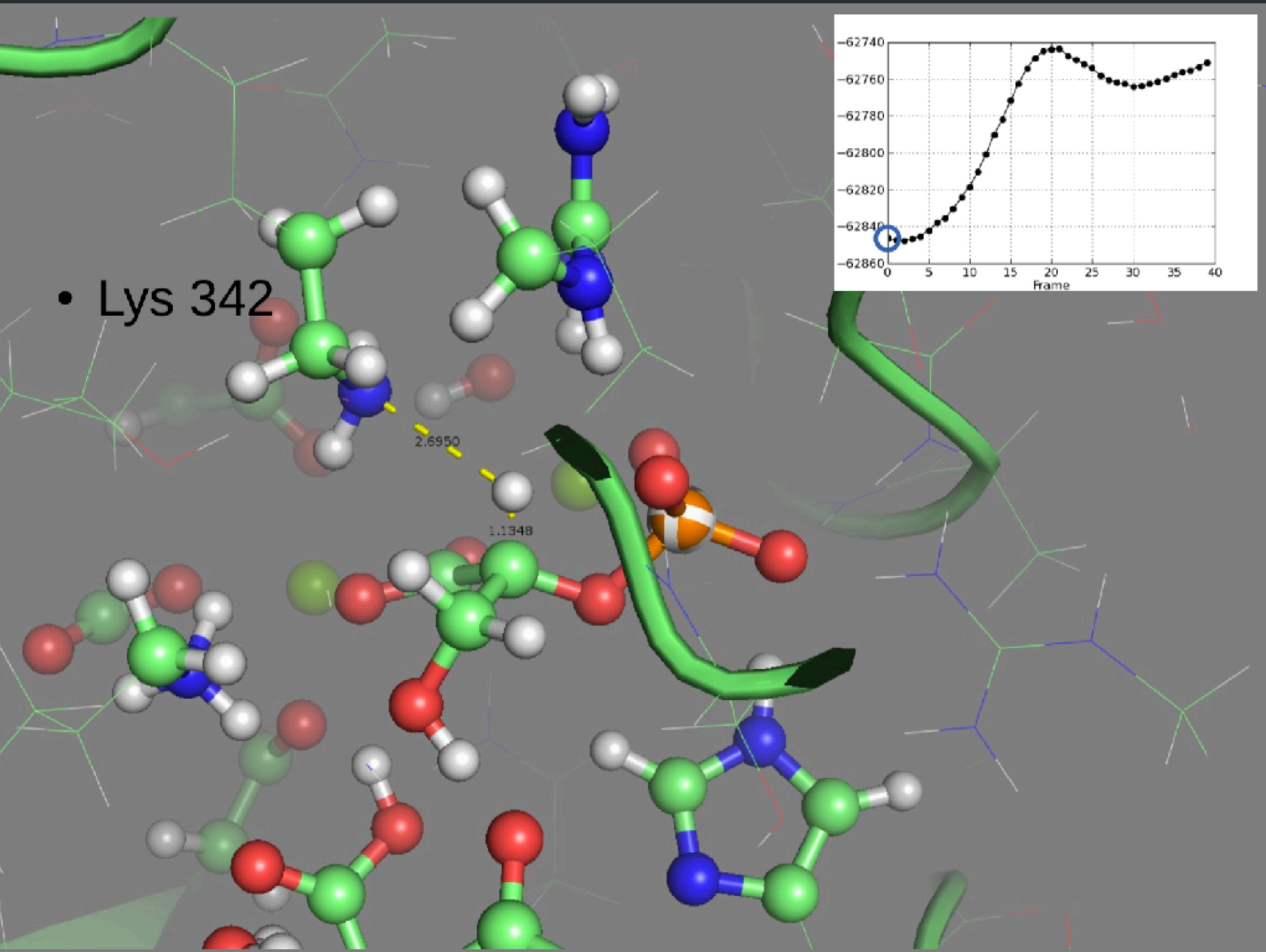
- Simples - Envolve apenas uma distância – exemplo d1



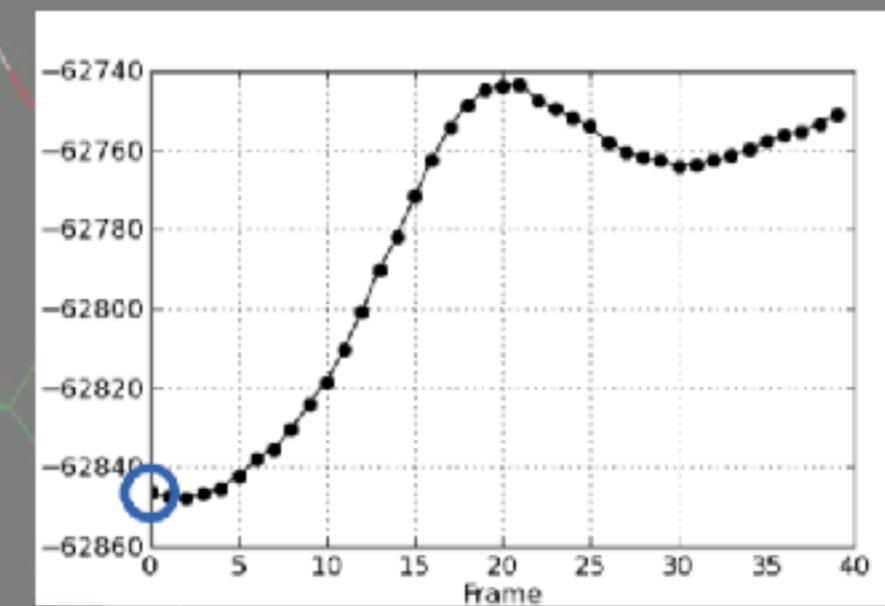
- Múltiplas - Envolve duas distâncias – d1 e d2

Simulação por métodos híbridos

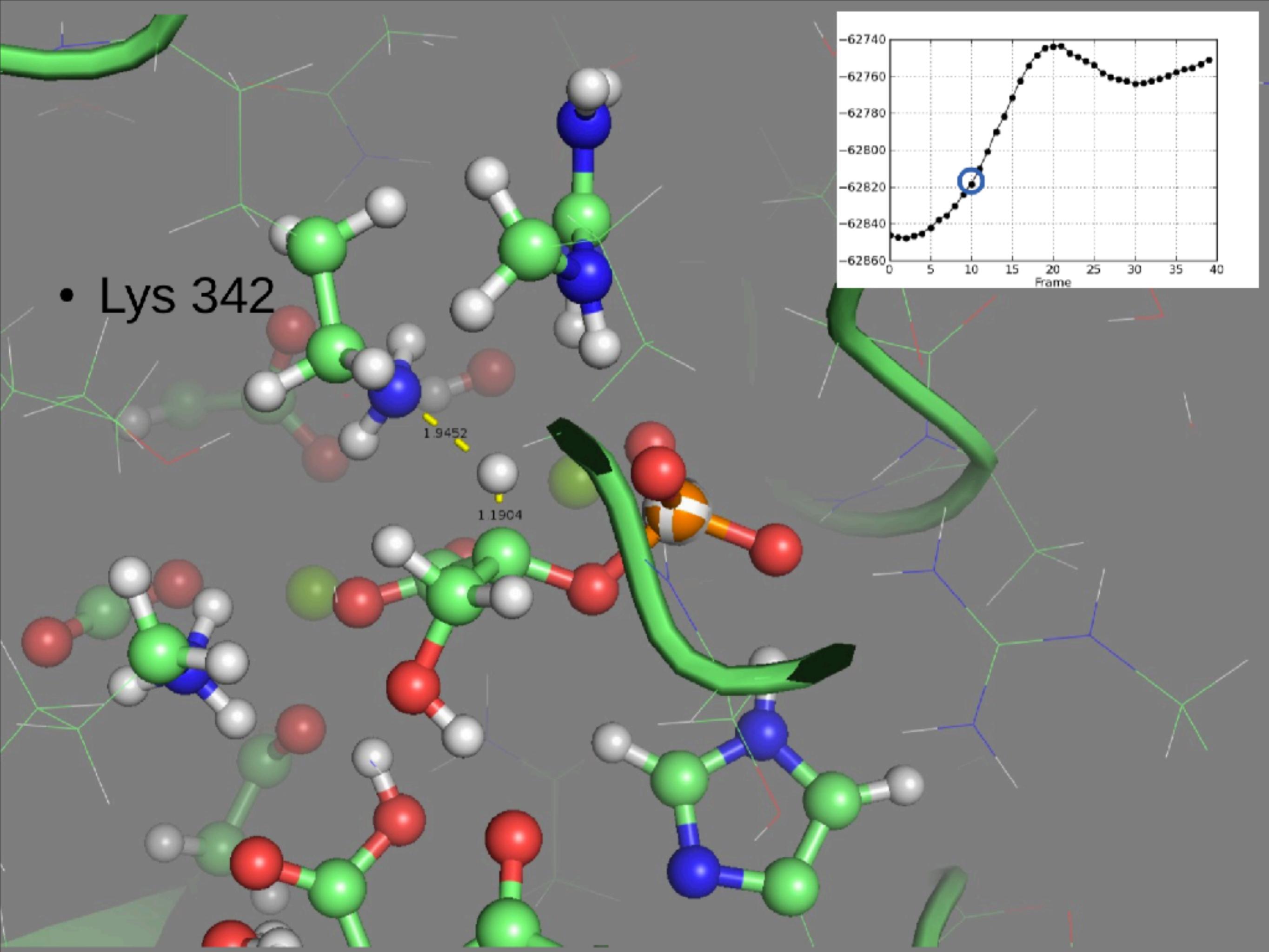




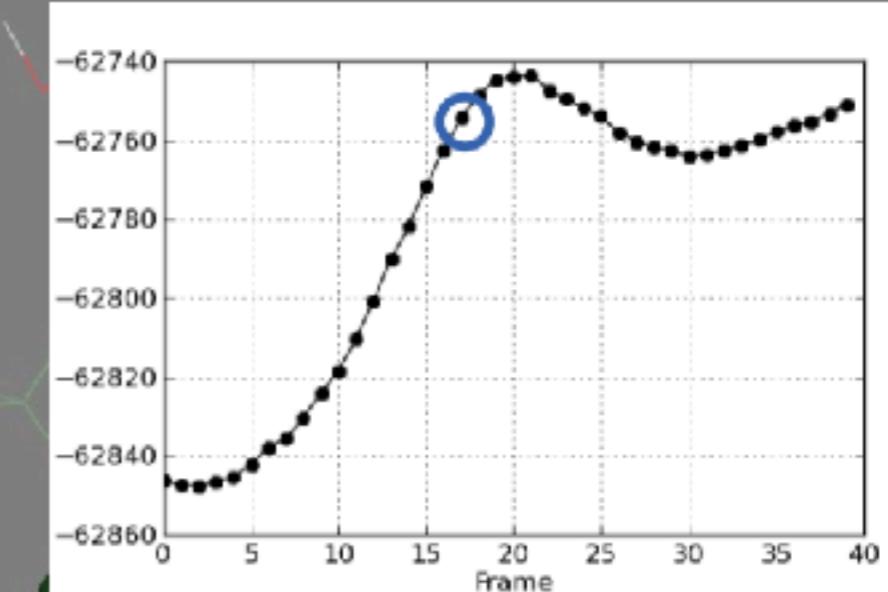
• Lys 342

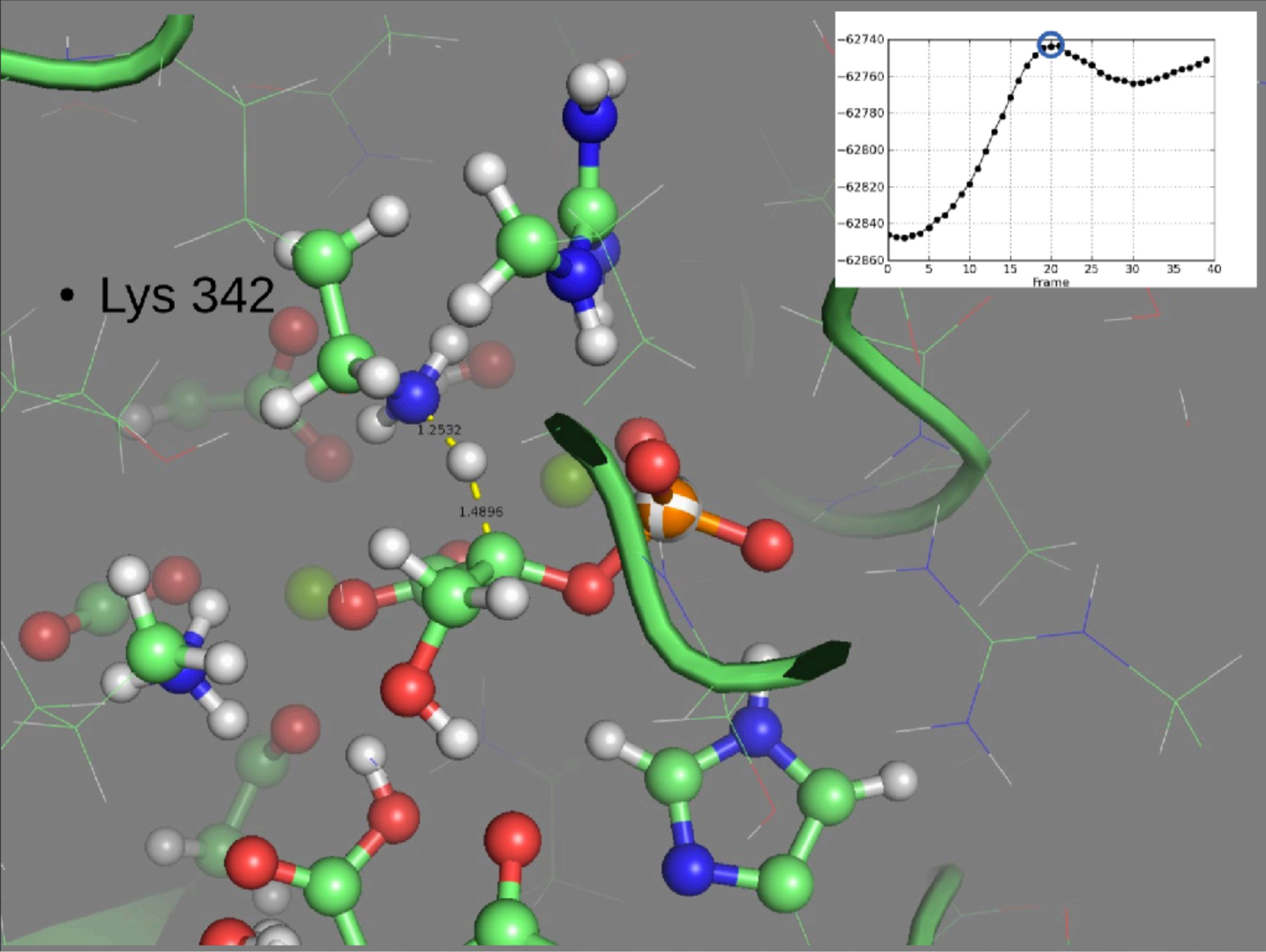


• Lys 342

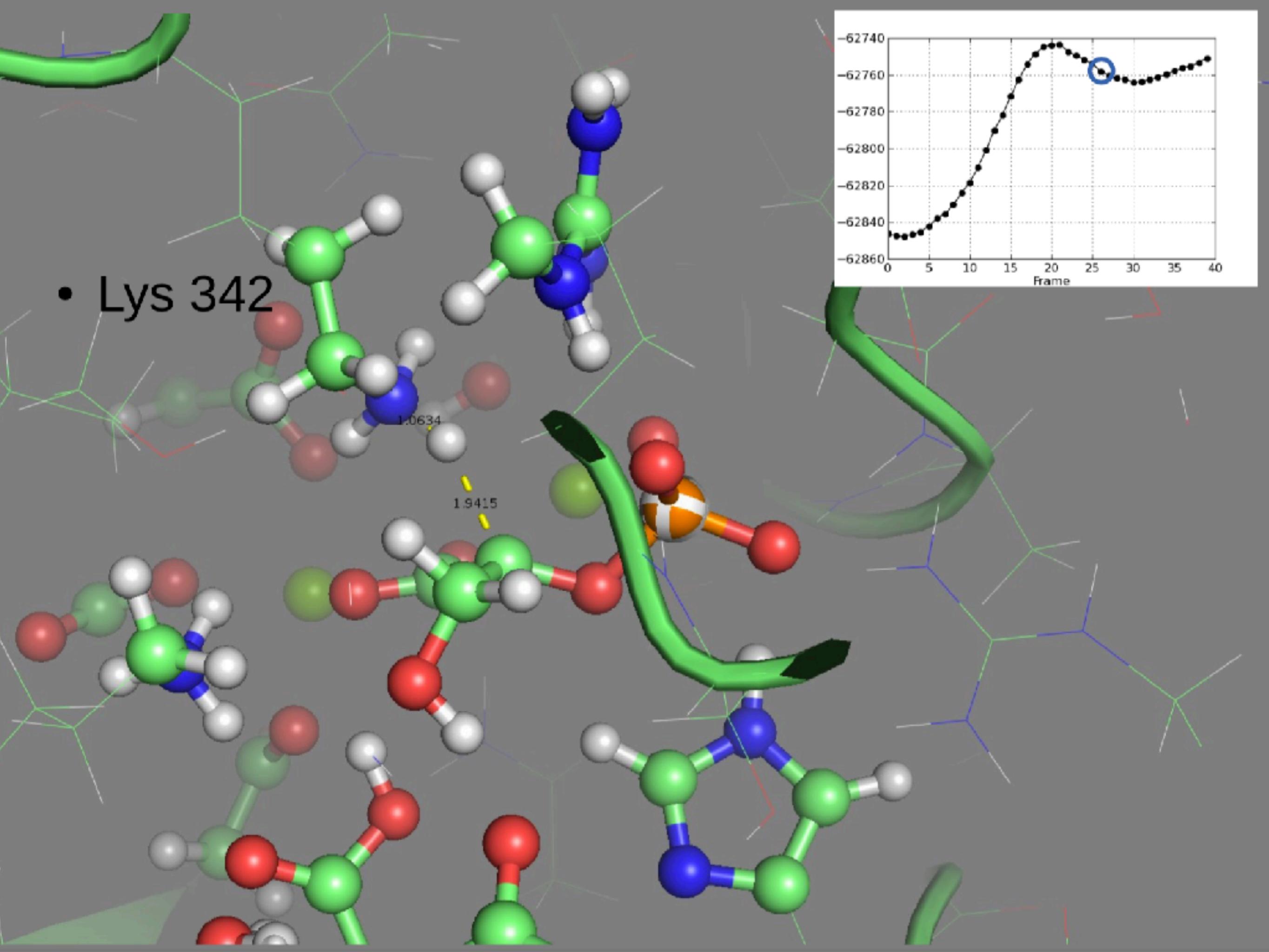


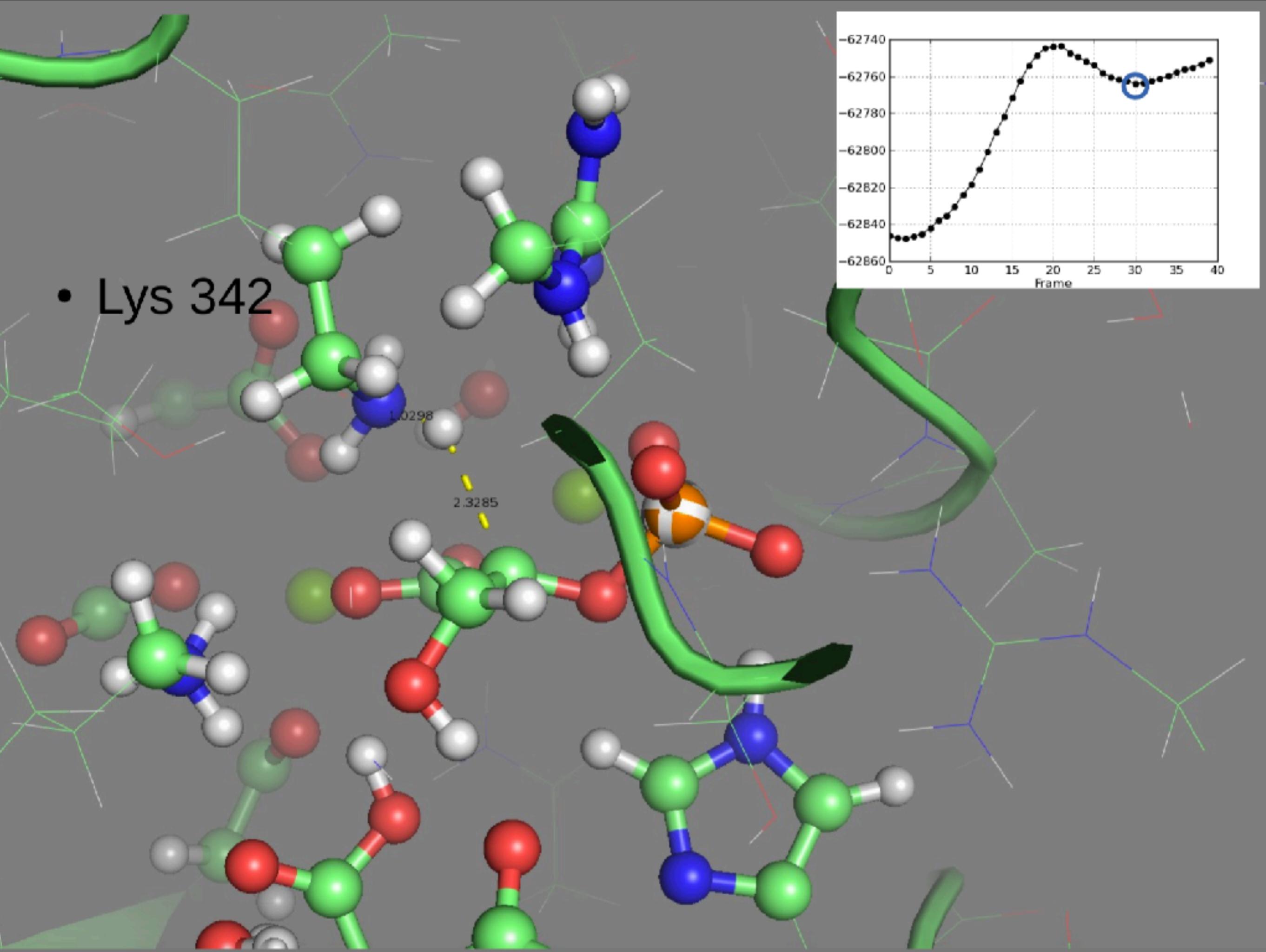
• Lys 342





• Lys 342

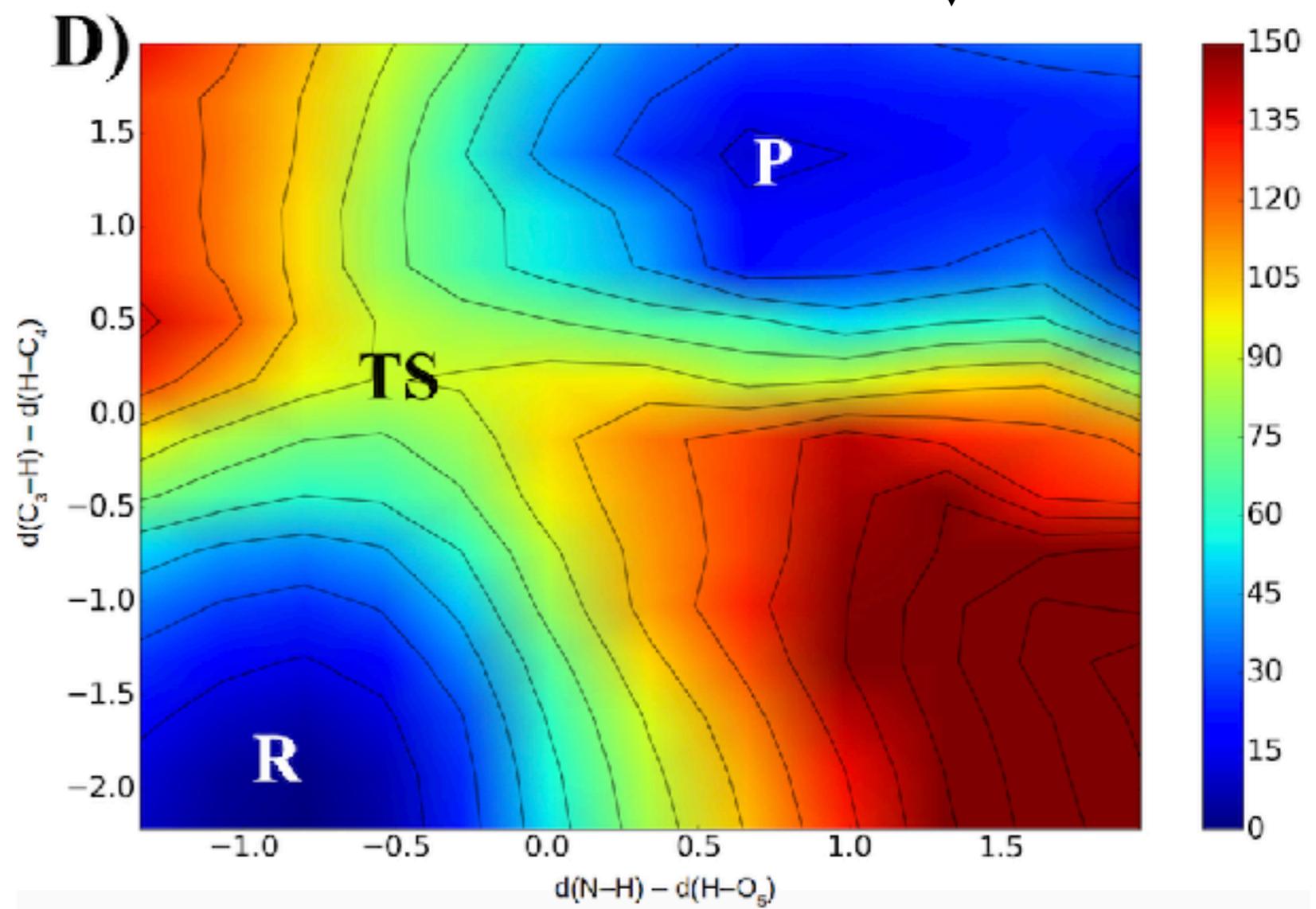




Simulação por métodos híbridos

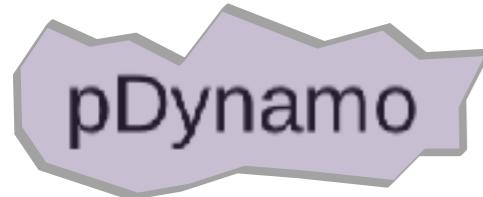
Quando utilizamos análises por meio de duas coordenadas de reação podemos ter uma estimativa se a reação de interesse ocorre via “**concertada**” ou “**stepwise**”

Exemplo de um resultado obtido por meio da análise de duas coordenadas de reação



Simulação por métodos híbridos

Existem diferentes programas para realizar simulações de sistemas híbridos (QC/MM)



- é uma **biblioteca open source**, desenhada para **simulações de sistemas moleculares**
- utilizando métodos de química quântica (**QC**)
- mecânica molecular (**MM**)
- ou híbridos **QC/MM**.
- Foi construído em **Python e C**.

Simulação por métodos híbridos

O pDynamo é o programa que realiza os cálculos entre os sistemas clássico (MM), quântico (QC) e QC/MM

Dentre as funcionalidades do pDynamo, incluem:

- DFT nativo (LDA e BLYP).
- Métodos Semi-empíricos tipo MNDO incluindo AM1, MNDO, PDDG, PM3, PM6 and RM1.
- Suporte para os campos de força AMBER, CHARMM e OPLS-AA.
- Cálculos envolvendo **metodologia híbrida**.
- Acopla com outros programas (**ORCA – ab initio QC**).
- Cálculos de energia.
- Optimização de geometrias.
- Busca por **estados de transição**
- Cálculo de caminhos de reação
- Análise de modos normais
- Cálculos de propriedades como: carga e dipolo
- Dinâmica Molecular
- Simulações de Monte Carlo
- Diversos tipos de restrições de geometria.
- Diversas ferramentas de análises.
- **Interface Gráfica - EasyHybrid (GTKDynamo)**

Simulação por métodos híbridos

O **pDynamo** é um programa que precisa ser utilizado por meio de scripts em Python

"""Example 9."""

```
from Definitions import *

# . Define the MM, NB and QC models.
mmModel = MMModelOPLS ( "bookSmallExamples" )
nbModel = NBModelFull ( )
qcModel = QCModelMNDO ( )

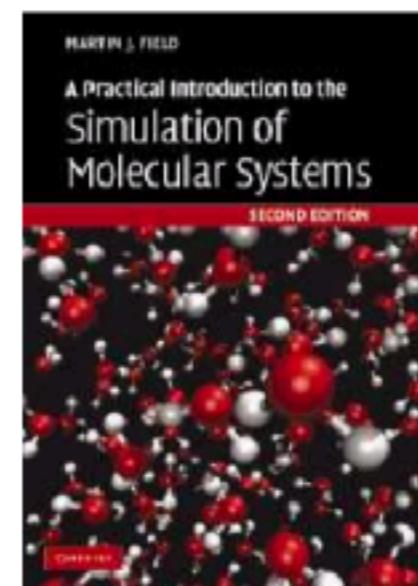
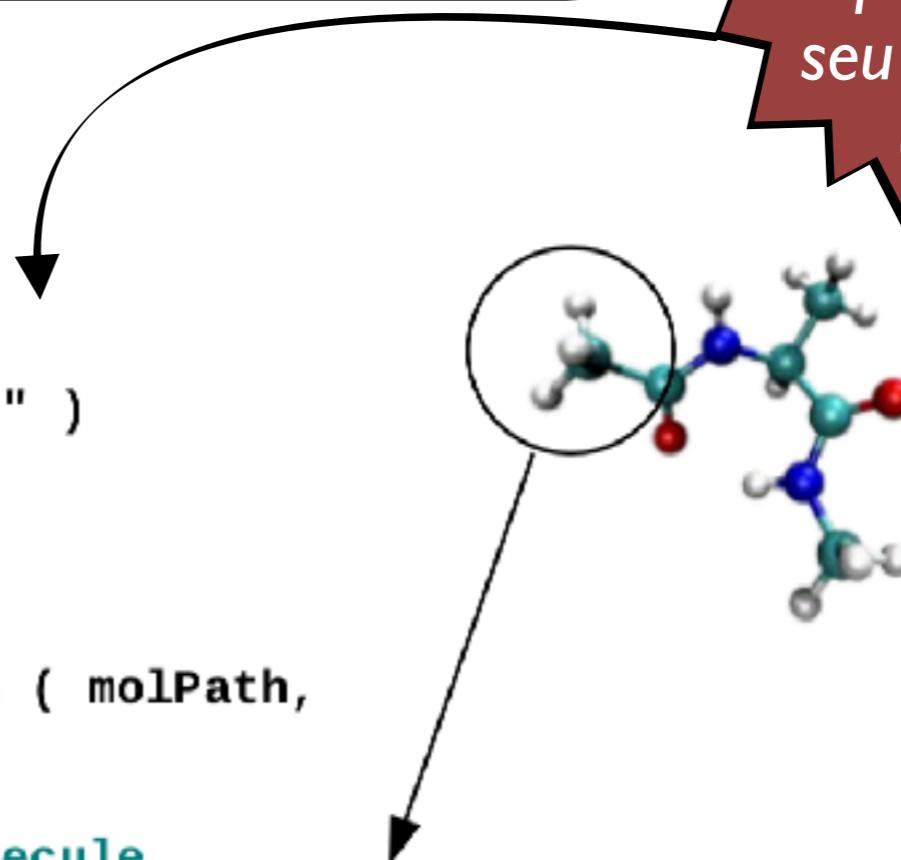
# . Define the molecule.
molecule = MOLFile_ToSystem ( os.path.join ( molPath,
"bala_c7eq.mol" ) )

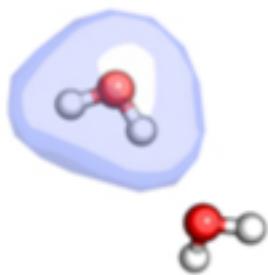
# . Define the selection for the first molecule.
methylGroup = Selection.FromIterable ( [ 10, 11, 12, 13 ] )

# . Define the energy model.
molecule.DefineMMModel ( mmModel )
molecule.DefineQCModel ( qcModel, qcSelection = methylGroup )
molecule.DefineNBModel ( nbModel )
molecule.Summary ( )

# . Calculate an energy.
molecule.Energy ( )
```

O que pode tornar o seu uso um pouco complicado





EasyHybrid

GTKDynamo

<https://sites.google.com/site/gtkdynamo/home>

